IMP. INST. ENT.
LIBRARY —
20 NOV 1946
Eu. 458
AGATE

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Fondées par J. CANTACUZÈNE

Dirigées par

C. IONESCO-MIHAIESTI, A. CIUCA et M. CIUCA

Tome 11 — No. 4

Août 1941

MONITORUL OFICIAL ŞI IMPRIMERIILE STATULUI
IMPRIMERIA NAŢIONALĂ. — BUCUREŞTI, 1941

SOMMAIRE DU No. 4

Août 1941 *)

MÉMOIRES ORIGINAUX

M. CIUCĂ, L. BALLIF, M. CHELARESCO, N. LAVRINENKO, M. HURDUC, M. ISANOS et L. GLASER. — *Contribution à l'étude de l'action préventive de l'atébrine [Infection intentionnellement provoquée au* Pl. falciparum *(M. T.) R, 78 et au* Pl. vivax *(B. T.) H. O. H. R.]* 355

P.-G. SHUTE and E. UNGUREANU. — *The longevity of the female adults of three races of* Anopheles maculipennis *which occur in nature in northern Roumania* 403

Sylvia IROFTI. — *Etude biochimique et sérologique de 51 souches de streptocoques* 423

M. NASTA, V. ŞEICARU et M.-H. DUMITRESCO. — *Note préliminaire concernant l'emploi de la tuberculine pour le dépistage de l'infection tuberculeuse dans les collectivités* 431

Ion COCIOBA. — *Présence du bactériophage dans les eaux. Son importance épidémiologique* 437

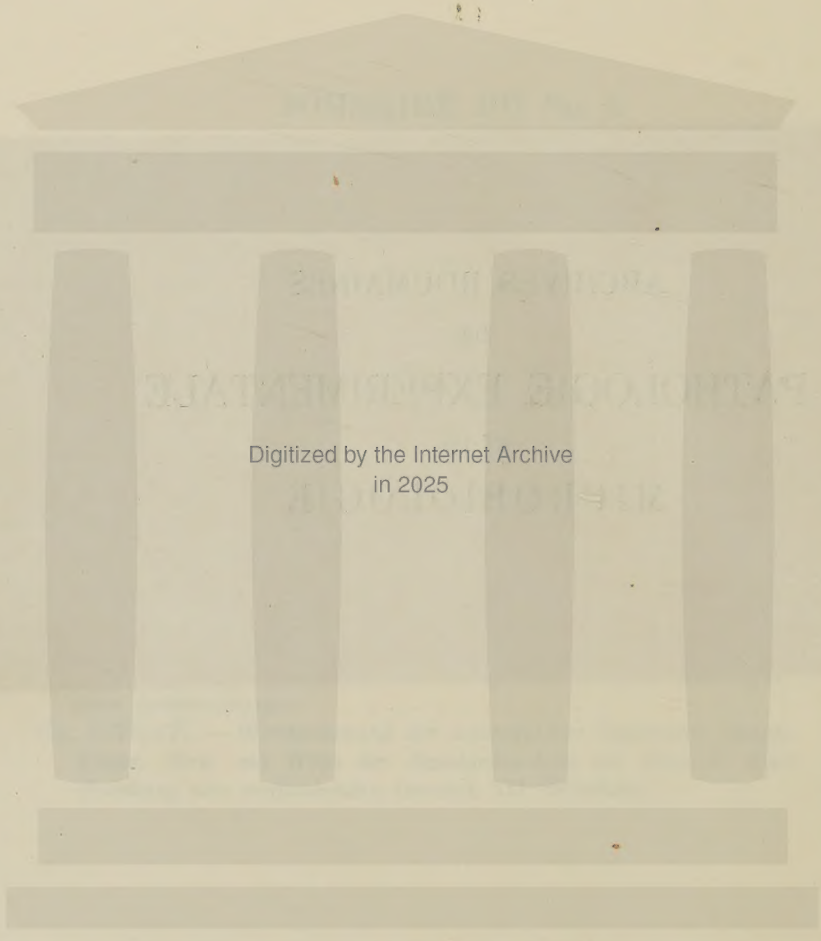
Gh. ISTRATI. — *Wertbemessung der antitoxischen Dysenterie* (Shiga-Kruse) *Sera mit Hilfe der Standardmethode am Tiere in ihrer Beziehung zum erstflockenden Gemisch* (III Mitteilung) 463

*) L'apparition de ce fascicule, qui complète le Tome XI des Archives roumaines, a subi un retard considérable provoqué par des circonstances indépendentes de notre volonté.

La Rédaction prie les lecteurs et les collaborateurs de ce périodique de bien vouloir excuser cette interruption dans l'apparition de cette Revue.

L'apparition de ce fascicule, qui compléte le Tome XI des Archives roumaines, a subi un retard considérable provoqué par des circonstances indépendentes de notre volonté.

La Rédaction prie les lecteurs et les collaborateurs de ce périodique de bien vouloir excuser cette interruption dans l'apparition de cette Révue.



Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/romanian-archives-of-microbiology-and-immunology_1941-08_22_4

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Fondées par J. CANTACUZÈNE

Dirigées par

C. IONESCO-MIHAIESTI, A. CIUCA et M. CIUCA

Tome 11 — No. 4
Août 1941

MONITORUL OFICIAL ŞI IMPRIMERIILE STATULUI
IMPRIMERIA NAŢIONALĂ. — BUCUREŞTI, 1941

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME 11 *No. 1* *AOÛT 1941*

MÉMOIRES ORIGINAUX

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION PRÉVENTIVE DE L'ATÉBRINE

[Infection intentionnellement provoquée au Pl. falciparum *(M. T.)* $^{R.\ 78}$ *et au* Pl. Vivax *(B. T.)* $^{H.\ O.\ H.\ R.}$*]*

par

M. CIUCA, L. BALLIF, M. CHELARESCO, N. LAVRINENKO, M. HURDUC

(INSTITUT CANTACUZÈNE ET STATION D'ETUDES DU PALUDISME DE SOCOLA)

M. ISANOS et L. GLASER

(STATION DE MALARIATHÉRAPIE (COȘTIUGENI)

En l'état actuel de nos connaissances de paludologie, l'utilisation de la documentation expérimentale, fournie à la chimiothérapie par l'emploi de l'infection paludéenne intentionnellement provoquée dans le traitement de la syphilis nerveuse, présente les avantages d'un test biologique indispensable. Les résultats acquis peuvent être rapportés: 1° à des conditions connues de virulence des espèces de parasites et de leur sensibilité vis-à-vis des produits antipaludéens utilisés dans la routine; 2° au stade de l'infection; 3° au degré éventuel d'immunité des sujets d'un pays paludéen. Les recherches sur la prophylaxie causale, en particulier, ne peuvent plus renoncer aux avantages de la méthode signalée ci-dessus.

Nous rappelons ici les données du 3e Rapport [1]) sur la prophylaxie causale à l'aide de l'atébrine, faisant état du résultat des recherches expérimentales effectuées dans le Centre de Malariathérapie de Horton et à Exminster. On y constate que ce médicament, administré pendant cinq à huit jours de suite en doses thérapeutiques, n'empêche pas l'infection, tout en la rendant latente pour une assez longue période de temps. La prophylaxie clinique peut donc être réalisée dans certaines conditions à l'aide de cette substance, ainsi que l'ont montré les recherches de James, de Kiruth, de Giovanolla, Soesilo et collaborateurs, etc.

Les résultats des recherches de prophylaxie à l'aide de l'atébrine *sur le terrain*, relatés dans le 4e Rapport sur le traitement du paludisme, ont apporté de nouvelles contributions à l'étude de l'efficacité de cette substance. Bastianelli, Mosna et Canalis, en Italie; Field, Niven et Hodkin en Malaisie, ont insisté sur les avantages de l'administration bi-hebomadaire, pendant toute la saison paludéenne, de 0,20 gr. d'atébrine (méthode recommandée par Schulemann et Peter); cette méthode donnerait de meilleurs résultats que celle à doses journalières de petites quantités de 0,05 gr. L'importance d'une certaine concentration du médicament dans l'organisme était donc prouvée une fois de plus.

Le point de vue pratique de l'emploi d'une méthode efficace de prophylaxie clinique, qui ne touche l'homme qu'à des intervalles espacés, a été poursuivi sur le terrain, en particulier par les malariologistes. Gaud, Sicault et Messerlin (1935) ont réalisé, dans les conditions épidémiologiques du Maroc, la protection des enfants, en utilisant l'administration *hebdomadaire de quinacrine* en doses thérapeutiques. Une population menacée par une vague endémique a été protégée des cas aigus et des rechutes par l'emploi d'un traitement standard, suivi pendant cinq mois d'administration hebdomadaire de quinacrine. Ces auteurs ont attiré l'attention sur l'importance d'adapter le rythme de l'administration de doses prophylactiques au caractère épidémiologique de la région à protéger et, plus particulièrement, aux variations de l'anophélisme et à la gravité des manifestations cliniques. A cette opinion se rallie également Philippe Decourt, qui « dose »

---

(1) *Bull. trim. de l'Organisation d'Hygiène de la S. D. N.*, vol. II, Ext. 5 (1).

la méthode de prophylaxie à la quinacrine d'après le degré d'impaludation d'une région. Robin, au cours de la même année, précise, dans les conditions épidémiologiques de l'Indochine, les circonstances dans lesquelles une méthode de prophylaxie à l'aide de l'association praequine-quinacrine pourrait donner les résultats attendus. Les recherches effectuées en Tunisie par Decourt, Villain et Dupoux, commencées en 1934, ont montré, après cinq ans d'observations, des résultats très favorables; d'après ces auteurs, la *méthode hebdomadaire* d'administration de quinacrine ne paraît pas être inférieure à la méthode bi-hebdomadaire, d'ailleurs plus coûteuse.

Ces résultats ont été confirmés par les expériences réalisées, dans la région du cap Bon, en Tunisie, sur 27.097 sujets, dont 10.021 enfants de 0 à 12 ans. Sans aucun traitement préalable, *la prophylaxie décadaire à la prémaline* pendant le premier mois, puis bi-mensuelle au cours des mois suivants, a donné à Dupoux et à ses collaborateurs des résultats très satisfaisants; en deux ans, les index d'endémicité seraient tombés à 0.

Field et Nieven, en Malaisie, ont démontré l'efficacité prophylactique d'une *dose hebdomadaire de* 0,30 *gr.* d'atébrine, administrée pendant plusieurs mois de suite.

Farinaud, dans deux mémoires présentés au F. E. A. T. M. (qu'il a bien voulu nous communiquer avant leur impression), montre, pour les conditions épidémiologiques spéciales de l'Indochine, la valeur des produits synthétiques dans la prophylaxie du paludisme et insiste sur la nécessité *d'accorder le rythme d'administration du médicament aux aspects épidémiologiques locaux:* méthode hebdomadaire, décadaire ou bi-hebdomadaire. L'auteur considère la *quinacrine* comme un élément essentiel dans la prophylaxie, sans sous-estimer toutefois les avantages de l'association de la prophylaxie médicamenteuse et des méthodes antianophéliennes dans la protection des collectivités. Dans un travail récent, Canet apporte son expérience de quatre années de prophylaxie collective antipaludique dans la région des Terres rouges du Nord de la Cochinchine. L'auteur insiste également sur le rythme de la distribution du médicament, — méthode hebdomadaire à la quinacrine, — qui correspond, d'après lui, aux cas les plus courants de « l'hyperendémie malarique indochinoise ».

Mais cette méthode est débordée dès qu'il s'agit d'une région où l'hyperendémie atteint une intensité plus forte, complétée d'un anophélisme très important et de la présence de nombreux réservoirs de virus.

Les données de la littérature résumée ci-dessus montrent clairement que les résultats des méthodes de prophylaxie à l'aide de l'atébrine sont en fonction des caractères de l'endémicité locale et, tout particulièrement, des possibilités et de l'intensité des éventuelles réinfections. La méthode d'administration du médicament, sa concentration dans l'organisme, la durée même de la méthode de prophylaxie, par rapport à la saison dangereuse (riche en éventuelles réinfections), ont également un rôle déterminant. Certains des auteurs cités ci-dessus insistent sur l'utilité, dans la prophylaxie collective, d'un traitement gaméticide associé; d'autres gardent une certaine réserve sur l'utilité de ce traitement.

* * *

Les multiples facteurs de variation qui peuvent intervenir sur le terrain au cours de l'application d'une méthode de prophylaxie diffèrent, naturellement, selon les caractères locaux de l'endémicité et permettent difficilement la comparaison des résultats. Les contradictions apparentes ne peuvent être éclaircies qu'à la lumière des recherches expérimentales effectuées en des conditions connues d'infection, des médicaments utilisés et des méthodes d'administration. C'est au laboratoire et dans le service de malariathérapie qu'on peut trouver en grande partie l'explication scientifique de certaines constatations faites sur le terrain.

Les résultats acquis dans ces institutions constituent des éléments de base pour expérimenter des nouveaux médicaments, apprécier et améliorer les méthodes utilisées sur le terrain. C'est pour répondre aux vœux de la Commission exprimés dans le 4e Rapport que nous avons essayé de préciser à voie expérimentale certaines méthodes de prophylaxie, ainsi que le mécanisme de l'action préventive de l'atébrine.

Des essais antérieurs de prophylaxie causale, à l'aide de différents produits antipaludéens [1]), confirmaient expérimentale-

(1) *Arch. roum. de Path. expériment. et Microb.*, v. 5, 1932, p. 204 — *Transactions of the Royal Soc. of Med.*, V, 31, pp. 235-241, 1937.

ment la résistance bien connue du sporozoïte aux différents produits paludéens, et apportaient en même temps une explication de l'efficacité des méthodes de prophylaxie de *longue durée* à l'aide de doses thérapeutiques de médicament. A notre avis, l'action de l'atébrine ou de la quinine, administrées pour une période de temps *d'au moins dix jours après l'infection*, s'exerce surtout sur les formes schizogoniques (dérivant du sporozoïte) dont la présence dans la circulation, à partir du sixième jour d'incubation, a été prouvée, ainsi que leur sensibilité au traitement.

I. — *INFECTION* AU PL. FALCIPARUM *(M. T.)* [R. 78]

Dans le but d'apporter certaines précisions, nous avons fait intervenir un traitement préventif de 5 jours, soit à la quinine (1 gr. × 5 jours), soit à l'atébrine (0,30 ctgr. × 5 jours), aux différents intervalles de l'incubation chez un certain nombre de sujets inoculés, au but de malariathérapie, à voie endoveineuse avec une suspension de sporozoïtes de notre souche de *Pl. falciparum*. L'administration de la quinine ou de l'atébrine commençait d'après les groupes considérés comme il suit: un jour avant l'inoculation endoveineuse de sporozoïtes; le 3e, le 5e et le 7e jour de l'incubation. Les résultats de l'observation de 47 sujets qui ont fait l'objet de nos études et de 17 témoins sont inscrits dans les tableaux I—V. Nous donnons ci-après les détails de nos observations:

a) Inoculation endoveineuse *unique* de sporozoïtes de *Pl. falciparum*. — *Administration d'atébrine ou de chlorhydrate de quinine un jour avant l'infection et au cours des quatre jours suivants* (tableau I).

Témoins: Sur 8 paralytiques inoculés et non traités, 7 ont présenté la maladie clinique, après une incubation de 11 jours (moyenne), variant de 9-14 jours pour les accès et de 9 jours pour les parasites (8-11 jours). Un seul se trouvait être immun: la période d'observation de ce dernier cas a été de 20 mois.

Quinine: 7 paralytiques traités au chlorhydrate de quinine (1 gr. × 5 jours) ont tous fait la maladie clinique; la période

TABLEAU I. — Malades du groupe *a*.

Noms des malades	Date de l'infection	Mode de l'infection	L'administration du médicament commence 24 heures avant l'infection		Période d'incubation: ...jours.			Disparition spontanée			Traitement	Période d'observation
			Atébrine	Quinine	A.	S.	G.	A.	S.	G.		
M. V.	15-v-37	Emulsion endov.	0,30×5 j.	—	0	90 j	0		+			4 mois.
B. El.	15-v-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0		+			2 »
R. Z.	15-v-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					7 »
I. A.	31-XII-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					7 »
C. Fr.	31-XII-36	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					3 »
R. V.	4-X-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					10 »
S. R.	4-X-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					10 »
T. J.	4-X-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					4 »
A. T.	4-X-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					6 »
A. I.	4-X-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					5 »
C. Ghe.	15-X-37	»	0,30×5 j.	—	28	29	37				At.: 0,30× 7j.	15 »
H. S.	15-X-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					3 »
B. G.	15-X-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					8 »
D. D.	15-X-37	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					18 »
B. I.	15-X-37	»		1 gr.×5 j.	12	11	25				Q.: 1 gr.× 7 j.	7 »
C. M.	15-X-37	»		1 gr.×5 j.	10	7	—				Q.: 1 gr.×10 j.	1 »
S. N.	15-X-37	»		1 gr.×5 j.	13	19	22				Q.: 1 gr.×10 j.	2 »
S. N.	31-XII-36	»		1 gr.×5 j.	11	8	15				Q.: 1 gr.×10 j.	12 »
E. T.	31-XII-36	»		1 gr.×5 j.	10	8	17				Q.: 1 gr.×10 j.	12 »
P. J.	31-XII-36	»		1 gr.×5rj.	14	8	19	+	+	+		4 »
C. A.	13-IV-37	»		1 gr.×5 j.	10	9	16				Q.: 1 gr.×10 j.	12 »
		TÉMOINS										
A. E.	31-XII-36	»	—	—	10	8	16				Q.: 1 gr.×10 j.	4 »
B. A.	31-XII-36	»	—	—	9	8	16				Q.: 1 gr.×10 j.	14 »
A. Al.	13-IV-36	»	—	—	—	—	—					20 »
M. Mar. ...	15-V-37	»	—	—	11	9	31				Q.: 1 gr.×10 j.	18 »
Bal. N.	4-X-37	»			13	10	19				At.: 0,30× 7 j.	2 »
B. Al.	4-X-37	»	—	—	14	9	20				At.: 0,30× 7 j.	6 »
B. Gb.	5-X-37	»	-		12	9	18				Plasm.: 0,02×1j.	1 »
L. L.	15-X-37	»	—	—	12	11	21				Q.: 1 gr.×10 j.	12 »

TABLEAU II. — Malades du groupe *b*.

Noms des malades	Date de l'infection	Mode de l'infection	L'administration du médicament commence 3 jours après l'infection		Période d'incubation: ...jours			Disparition spontanée			Traitement	Période d'observation
			Atébrine	Quinine	A.	S.	G.	A.	S.	G.		
C. E.	3-XI-37	Emulsion endov.	0,30×5 j.	—	0	0	0					2 mois
L. L.	3-XI-37	»	0,30×5 j.	—	0	104	0		+			20 »
B. P.	3-XI-37	»	0,30×5 j.	—	0	20	0		+			20 »
A. T.	18-VII-38	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					12 »
C. A.	18-VII-38	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					4 »
Gl. 7	18-VII-38	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					12 »
O. F.	18-VII-38	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					1 »
M. Ch.	3-XI-38	»		1 gr.×5 j.	18	16	26				At.: 0,30×7 j.	2 »
S. N.	3-XI-37	»		1 gr.×5 j.	22	14	30				Q.: gr.×10 j.	2 »
P. Pr.	3-XI-37	»		1 gr.×5 j.	0	37	0		+			8 »
	TÉ MOINS											
Z. R.	3-XI-37	»	—	—	12	11	12				At.: 0,30×7 j.	3 »
O. I.	3-XI-37	»	—	—	15	6	22				At.: 0,30×7 j.	2 »
B. J.	3-XI-37	»		—	17	8	21		+			2 »
C. M.	18-XI-37	»	—	—	14	12	21				Q.: 1 gr.×10 j.	1 »

d'incubation a varié de 10-14 jours pour les accès et 7-11 jours pour les parasites.

Atébrine : Sur 14 malades traités à l'atébrine (0,30 ctgr. × 5 jours) un seul a présenté, après une incubation de 28 jours, une maladie clinique sévère nécessitant l'intervention d'un traitement (At.: 0,30 × 7).

Un malade n'a présenté qu'une infection parasitaire, 3 mois après l'inoculation, avec disparition spontanée.

12 malades n'ont pas présenté d'infection; la période d'observation a été comme il suit: plus de 8 mois: 3; moins de 8 mois: 5; moins de 2 mois: 2; deux mois: 2.

Le sporozoïte et les premières formes de transition (?) vers le trophozoïte paraissent être plus sensibles à l'action de l'atébrine; ce produit n'empêche cependant pas l'infection en 2 sur 14 cas. La période d'incubation des cas positifs a été prolongée: 38 jours pour la maladie clinique et 90 jours pour les parasites (cas AoP+).

La quinine administrée dans ces conditions n'a pas d'action sur le sporozoïte; la période d'incubation a été pareille à celle des témoins non traités.

b) Inoculation endoveineuse *unique* de sporozoïtes de *Pl. falciparum. — Administration des médicaments à partir du 3 jour de l'incubation*; *durée : 5 jours* (tableau II).

Témoins : 4 paralytiques non traités ont présenté la maladie clinique après une période d'incubation respectivement de 12, 14, 15 et 16 jours; l'apparition des parasites a été constatée après 6, 8, 11 et 12 jours d'incubation.

Quinine : Sur 3 malades traités, 2 ont présenté la maladie clinique le 18e et le 22e jour d'incubation; le troisième n'a présenté qu'une infection parasitaire après 37 jours d'incubation.

Atébrine : Sur 7 malades traités à l'atébrine, seulement 2 ont présenté une infection parasitaire après une période d'incubation de 20 et 104 jours; 5 n'ont pas présenté d'infection.

Après une période d'observation de 12 mois, *on peut affirmer que l'atébrine, administrée à partir du 3e jour d'incubation, exerce une action sur le parasite, en diminuant en quelque sorte sa virulence :*

Dans les deux cas d'infection parasitaire, la période d'incubation a été prolongée; le premier stade de l'infection afébrile

TABLEAU III. — Malades du groupe *c*.

Noms des malades	Date de l'infection	Mode de l'infection	L'administration du médicament commence 5 jours après l'infection		Période d'incubation : ... jours			Disparition spontanée			Traitement	Période d'observation
			Atébrine	Quinine	A.	S.	G.	A.	S.	G.		
D. Ct.	14-v-37	Emulsion endov.	0,30×5 j.			37	0		+			État sous-fébrile 17 mois
C. I.	14-v-37	»	0,30×5 j.	—	34	32	0		+			19 »
R. E.	14-v-37	»	0,30×5 j.	—	34	32	0					19 »
B. L.	18-vii-38	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					12 »
S. Z.	18-vii-38	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					4 »
B. M.	18-vii-38	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					11 »
T. V.	18-vii-38	»	0,30×5 j.	—	0	0	0					12 »
L. M.	14-v-37	»		1 gr.×5 j.	18	12	27				Q.: 1 gr.×10 j.	18 »
C. V.	14-v-37	»		1 gr.×5 j.	0	90	96		+	+	—	18 »
M. Ch.	14-v-37	»		1 gr.×5 j.	10	10	50		+	+		12 »
		Témoins										
C. M.	14-v-37	»	—	—	11	9	22				Q.: 1 gr.×10 j.	19 »
B. E.	18-vii-38	»	—	—	15	15	23				Cortipan: 1 gr.×7 j.	12 »
B. I.	17-vii-38	»	—	—	10	9	18				Q.: 1 gr.×10 j.	1 »

s'est manifesté seulement par la présence du parasite dans le sang, suivie de sa disparition spontanée.

Au cours de cette période, on n'a pas trouvé de gamétocytes dans le sang.

c) Inoculation endoveineuse *unique* de sporozoïtes. — *Traitement précoce à partir du 5e jour de l'incubation* (tableau III).

Témoins : 3 paralytiques non traités ont présenté la maladie clinique après une période d'incubation de 10, 11 et 15 jours pour les accès, et 8, 9 et 15 jours pour les parasites.

Quinine : Sur 3 malades traités au chlorhydrate de quinine (1 gr. × 5 jours), 2 ont présenté la maladie clinique après une période d'incubation respectivement de 10 et 12 jours ; l'un de ces cas a fait une forme sévère. Le 3e cas a présenté une infection parasitaire trois mois après.

Atébrine : Sur 7 paralytiques infectés et traités dans les mêmes conditions, 3 ont présenté la maladie clinique après une période d'incubation respectivement de 37, 32 et 32 jours ; 4 n'ont pas fait l'infection.

L'action de l'atébrine sur les premières générations de trophozoïtes est supérieure à celle de la quinine et se manifeste par la diminution du pourcentage des infections et par une incubation prolongée. Tous les cas ont guéri spontanément sans l'intervention d'une autre série de traitement.

d) Inoculation endoveineuse *unique* de sporozoïtes. — *Traitement précoce à partir du 7e jour de l'incubation* (tableau IV).

Témoins : 2 paralytiques non traités ont présenté la maladie après une période d'incubation variant de 8 à 9 jours. Les deux témoins ont présenté une forme clinique sévère.

Quinine : Sur 3 paralytiques traités (1 gr. × 5 jours), un a présenté une forme clinique bénigne après une longue période d'incubation ; disparition spontanée de la fièvre et des parasites. Les deux autres n'ont pas présenté de parasites au cours d'une période d'observation de 3 et 19 mois.

Atébrine : Sur 3 malades traités, 2 ont présenté une infection parasitaire avec léger état sous-fébrile ; le troisième, une forme clinique très bénigne. La période d'incubation a varié de 30 à 37 jours. Les 3 ont guéri spontanément.

TABLEAU IV. — Malades du groupe *d*.

Noms des malades	Date de l'infection	Mode de l'infection	L'administration du médicament commence 7 jours après l'infection		Période d'incubation: ... jours			Disparioton spontanée			Traitement	Période d'observation
			Atébrine	Quinine	A.	S.	G.	A.	S.	G.		
P. H.	14-v-37	Emulsion endov.	0,30×5 j.	—		12	0		+			État sous fébrile 19 mois
T. P.	14-v-37	»	0,30×5 j.	—	41	31	0	+	+			11 »
A. V.....	14-v-37	»	0,30×5 j.	—		36	0		+			État sous fébrile 19 mois
Tr. Sm. ...	14-v-37	»		1 gr.×5 j.	30	39	0	+	+			9 »
B. V.....	14-v-37	»		1 gr.×5 j.	0	0	0					2 »
St. S.	14-v-37	»		1 gr.×5 j.	0	0	0					19 »
		TÉMOINS										
S. R.	14-v-37	»			9	8	27				Q.: 1 gr.×10 j.	19 »
V. E.....	14-v-37	»	—		8	7	21				Q.: 1 gr.×10 j.	18 »

TABLEAU V. — Résultats comparatifs des malades des groupes *a*, *b*, *c*, *d*.

Infection endoyeineuse de sprozoïtes de *Pl. falciparum*		Groupe de malades soumis au traitement préventif : A. 24 heures avant l'infection	B. 3 jours après l'infection	C. 5 jours après l'infection	D. 7 jours après l'infection	Résultats des l'observation A+P+	A±P+	AoP+	AoPo	Période d'observation
A.	Atébrine: 0,30×5 j.	14	—	—	—	1	—	1	12	2-18 mois.
	Quinine: 1 gr.×5 j.	7	—	—	—	7	—	—	—	1-12 »
	Témoins	8	—	—	—	7	—	—	1	1-20 »
B.	Atébrine: 0,30×5 j.		7	—	—	—	—	2	5	2-20 »
	Quinine: 1 gr.×5 j.		3	—	—	2	—	1	—	2- 8 »
	Témoins		4	—	—	4	—	—	—	1- 3 »
C.	Atébrine: 0,30×5 j.			7	—	3	—	—	4	4-19 »
	Quinine: 1 gr.×5 j.			3	—	1	1	1	—	12-18 »
	Témoins			3	—	3	—	—	—	1-19 »
D.	Atébrine: 0,30×5 j.				3	—	3	—	—	11-19 »
	Quinine: 1 gr.×5 j.				3	1	—	—	2	2-19 »
	Témoins				2	2	—	—	—	18-19 »

Il est difficile de marquer dans ce groupe une différence entre l'action de la quinine et celle de l'atébrine. Dans ce stade de l'infection, le traitement ne paraît pas entraver l'immunisation du malade, qui se manifeste par une tendance à la guérison spontanée. Il n'y a pas d'apparition des gamétocytes dans ces cas, au cours de la période d'observation.

L'action des médicaments sur les formes jeunes de trophozoïtes paraît très marquée.

Nous avions démontré auparavant qu'en général les trophozoïtes se trouvent dans le sang périphérique à partir du 6e jour (contrôle par inoculation de sang périphérique à de nouveaux malades), quoique les examens en goutte épaisse restent négatifs. Dans les cas où le traitement « précoce » a commencé le 7e jour (et même le 5e jour), on peut considérer la présence des parasites sur lames, après une longue période d'incubation, comme des rechutes parasitaires, et les formes cliniques tardives comme des rechutes cliniques.

Résumé: *Il résulte de ces recherches que l'action « débilitante » de l'atébrine administrée en doses thérapeutiques sur le sporozoïte et ses premières formes de transition ? (1er groupe), est suffisamment marquée pour retenir toute notre attention. Si l'infection n'est pas prévenue dans tous les cas par l'atébrine, la maladie clinique este insignifiante et l'infection parasitaire temporaire. La quinine, par contre, ne manifeste aucune action dans ce premier stade de l'infection. L'action de l'atébrine sur la virulence du parasite, supérieure à celle de la quinine, est évidente aussi dans le 2e et le 3e groupe de malades (administration du médicament à partir du 3e et du 5e jour de l'incubation).*

Il n'y a que dans le 4e groupe de malades, quand l'action des médicaments (à partir du 7e jour d'incubation) s'exerce sûrement sur les formes schizoniques, que les différences entre l'action des deux substances schizogontocides s'effacent (tableau V; résultats comparatifs des groupes *a*, *b*, *c*, *d*).

* * *

VIRULENCE COMPARÉE DU SANG DES SUJETS INOCULÉS SOIT AVEC DES SPOROZOÏTES, SOIT AVEC DU SANG VIRULENT SOUS LA PROTECTION

D'UN TRAITEMENT PRÉVENTIF A L'ATÉBRINE. — Pour préciser les limites de l'action préventive de l'atébrine par rapport à la durée et l'intensité du traitement d'une part, les formes du parasite sur lesquelles s'exerce l'action de ce médicament d'autre part, nous avons contrôlé le pouvoir infectant du sang des sujets, inoculés dans ces conditions et maintenus pendant 5 jours sous la protection de l'atébrine (0,30 × 5 jours).

1° Deux sujets (H. A... et D. E...) ont recu, aux fins de malariathérapie, une inoculation endoveineuse de sporozoïtes de *P. falciparum* (250.000 à 300.000).

L'administration d'un traitement préventif de 5 jours à 0,30 d'atébrine commençait 24 heures avant l'infection; la seconde dose d'atébrine était administrée 7 heures après l'inoculation des sporozoïtes. Ces deux sujets ont servi ensuite, *6 heures jusqu'à 7 jours de suite*, comme donneurs de sang à d'autres sujets d'après le schéma du tableau VI A. Les sujets récepteurs, qui devaient nous révéler le pouvoir d'infectivité du sang du sujet soumis à la prophylaxie, en recevaient soit 20 centimètres cubes dans la veine, soit 4 centimètres cubes par voie intramusculaire; les résultats obtenus sont inscrits dans le tableau VI A.

À la lecture du tableau VI A, on se rend compte qu'après l'inoculation d'une forte suspension de sporozoïtes sous la protection de l'atébrine, *le sang du sujet devient infectant à partir du 7e jour de l'inoculation.* Nous avons démontré, dans un travail antérieur (1), que cette durée était de six jours dans les cas non traités. Dans les conditions de nos essais, la durée de l'incubation de la maladie chez les deux donneurs n'a pas été influencée par l'atébrine; la forme clinique dans les deux cas a été cependant très légère et n'a nécessité de nouveau traitement. L'atébrine ne paraît pas avoir influencé le durée de l'évolution du sporozoïte au trophozoïte. Son action sur le parasite s'est traduite par la bénignité de la forme clinique.

Au cours d'une période d'observation de sept mois, tous les sujets inoculés avec la sang du donneur pris dans les six premiers jours, suivant l'inoculation de sporozoïtes, n'ont pas présenté l'infection.

2° Utilisant la même méthode, les résultats ont été différents dans un second groupe de deux sujets inoculés à voie endoveineuse (transfusion: 200 cc.) avec du *sang virulent* de *P. falciparum*, en mettant le donneur sous la protection d'atébrine administrée un jour avant l'infection et puis quatre jours (0,30 gr. par jour).

Les sujets C. M... et Naz. V..., dont l'état nerveux exigeait la malariathérapie, ont donc reçu dans la veine 200 centimètres cubes de sang virulent. (T. V. 100/68); le traitement préventif de 5 jours à l'atébrine commençait 24 heures avant la transfusion virulente; la seconde dose d'atébrine était administrée sept heures après la transfusion du sang virulent. Six heures aprés la transfusion virulente et au cours des sept jours suivants, on inoculait, avec le sang des donneurs C. M... et Naz. V..., d'autres sujets, en variant les quantités de sang et la voie d'inoculation: 20 centimètres cubes par voie endoveineuse et 4 par voie intra-musculaire (2 cc. I.-M. + 2 cc. S.-C.).

Les résultats de l'action de l'atébrine sur le pouvoir d'infectivité du sang de ces donneurs sont inscrits dans le tableau VI B et suggèrent les *remarques* suivantes:

Au cours des cinq jours suivants (23.XI.38—27.XI.38), tous les sujets inoculés dans la veine avec 20 centimètres cubes de sang provenant des deux donneurs maintenus sous la protection de l'atébrine, ont présenté l'infection (malgré le nombre très réduit des parasites, parfois examen négatif sur lame du sang du donneur). L'inoculation intramusculaire de 4 centimètres cubes de sang (2 cc. I.-M. + 2,5 S.C.) provenant des mêmes donneurs, par contre, s'est montrée insuffisante à donner l'infection à partir du 4e jour de l'expérience.

Le sang des deux donneurs soumis à cette méthode de prophylaxie n'est plus infectant à partir de la 48e heure après la cinquième dose d'atébrine. L'efficacité de cette substance est en rapport avec la concentration du médicament et l'intensité du parasitisme, sur lesquels Peter, Kikuth et d'autres auteurs ont insisté à plusieurs reprises. L'action schizontocide de l'atébrine est progressive; ses effets continuent après la cessation du traitement. Nos observations ne paraissent pas confirmer l'hypothèse d'une action directe du médicament sur le parasite.

TABLEAU VI. — *A.* Inoculation de sporozoïtes de *Pl. falciparum*.

Donneur I	Receveurs				Donneur II	Receveurs			
H. A...	L'inoculation du sang a été faite	Sujets inoculés avec le sang du donneur H. A...	Voie d'inoculation	Résultats et période d'incubation	D. E...	L'inoculation du sang a été faite	Sujets inoculés avec le sang du donneur D. E...	Voie d'inoculation	Résultats et période d'incubation
20-VII-38 At.: 0,30	24 heures avant l'infection du donneur.	C. A...	20 cc. I.-V.	AoPo.	20 cc. I.-V. 2 cc. I.-M.	24 heures avant l'infection du donneur	S. C...	20 cc. I.-V.	AoPo.
		H. E...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			C. A...	2 cc. I-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.
21-VII-38. Suspension de sporozoïtes (6 glandes = 300.000). At:. 0,30. AoPo.	6 heures après l'infection du donneur.	Pl. M...	20 cc. I-.V.	AoPo.	21-VII-38. Suspension de sporozoïtes (6 glandes = 300.000). At.: 0,30. AoPo.	6 heures après l'infection du donneur.	M. El..	20 cc. I.-V.	AoPo.
		Ro. A..	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			T. B...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.
22-VII-38. At.: 0,30. AoPo.	24 heures après l'infection.	C. E...	20 cc. I.-V.	AoPo.	22-VII-38. At.: 0,30. AoPo.	2 jours après l'infection.	C. D...	20 cc. I.-V.	AoPo.
		D. L...	2 cc. I.-M. 2 cc. S.-M.	AoPo.			C. D...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.

23-VII-38. At.: 0,30. AoPo.	2 jours après l'infection.	B. E...	20 cc. I.-V.	AoPo.	23-VII-38. At.: 0,38. AoPo.	2 jours après l'infection.	Tit. .I..	20 cc. I.-V.	AoPo.
		V. P...	2 cc. I-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			Sp. T..	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.
24-VII-38. At.: 0,30. AoPo.	3 jours après l'infection.	Ch. V..	20 cc. I.-V.	AoPo.	24-VII-38. At.: 0,30. AoPo.	3 jours après l'infection.	M. V...	20 cc. I-.V.	AoPo.
		T. M...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			C. S...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.
25-VII-38. AoPo.	4 jours après l'infection.	I. V...	20 cc. I.-V.	AoPo.	25-VII-38. AoPo.	4 jours après l'infection.	U. L...	20 cc. I.-V.	AoPo.
		S. O...	2 cc. I.-M. + 2 cc. S.-C.	AoPo.			L. E...	2 cc. S.-C. +2 cc. S-C.	AoPo.
26-VII-38 AoPo.	5 jours après l'infection.	C. E...	20 cc. I.-V.	AoPo.	26-VII-38. AoPo.	5 jours après l'infection.	L. M...	20. cc. I.-V.	AoPo.
		M. P...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			Ch. T..	2 cc. I.-M) +20cc. S.-C.	A+ P+
27-VII-38. AoP+.					27-VII-38. AoPo.				

Situation du donneur I (H. A...) dans les premiers jours après l'infection endoveineuse d'une émulsion de 6 glandes = 300.000 sporozoïtes: 21-VII-38 - 26-VII-38 = AoPo; 27-VII38 = AoP+.

Situation du donneur II (D. E...) dans les premiers jours après l'infection endoveineuse d'une émulsion de 6 glandes = 250.000 sporozoïtes: 21-VII-38 - 26-VII-38 = AoPo; 27-VII-38 = Ao P+.

TABLEAU VI. — *B.* Inoculatoin de sang virulent de *Pl. falciparum.*

Donneur I	Receveurs				Donneur II	Receveurs			
Naz. V...	L'inoculation du sang a été faite	Sujets inoculés avec le sang du donneu Naz. V...	Voie d'inoculation	Résultats et période d'incubation	Cr. Mat...	L'inoculation du sang a été faite	Sujets inoculés avec le sang du donneu Cr. Mat...	Voie d'inoculation	Résultats et période d'incubation
22-XI-38. At.: 0,30					22-XI-38. At.: 0,30.				
23-XI-38. Transfusion de 200 cc. sang virulent du Tan, VI (68/100).	6 heures après l'infection du donneur.	G. M...	20 cc. I.-V.	A+ P+ 3 j. 3 j. Trt.	23-XI-38. Transfusion de 200 cc. sang virulent du Tan, VI (68/100).	6 heures après l'infection du donneur.	C. M...	20 cc. I.-V.	A+ P+ 7 j. 3 j. Trt.
		Ch. A...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	A+ P+ 19 j. 10 j. Trt.			Tm. E...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	A+ P+ 12 j. 10 j. Trt.
At.: 0,30. AoP+.					At.: 0,30. AoP+.				
24-XI-38. At.: 0,30. A±P+.	24 heures après l'infection.	M. I...	20 cc. I.-V.	A+ P+ 12 j. 9 j. Trt.	24-XI-38. At.: 0,30. (2/100).	24 heures après l'infection.	Tc. A...	20 cc. I.-V.	A+ P+ 7 j. 9 j. Trt.
		M. T...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	A+ P+ 12 j. 12 j. Trt.			T. A...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	A+ P+ 25 j. 9 j. Trt.
25-XI-38. At.: 0,30. AoPo.	3 jours après l'infection.	S. M...	20 cc. I.-V.	A+ P+ 10 j. 8 j. Trt. AoPo.	25-XI-38. At.: 0,30. AoP±.	3 jours après l'infection.	V. I...	20 cc. I.-V.	A± P+ 17 j. 11 j. Trt. AoPo.
		F. S...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.				Cr. A...	2 cc. I.-M. +2 cc. S. C.	

26-XI-38. At.: 0,30. AoPo.	4 jours après l'infection.	G. A...	20 cc. I.-V.	A+ P+ 15 j. 10 j. Trt.	26-XI-38. At.: 0,30. AoP±.	4 jours après l'infection.	G. R...	20 cc. I.-V.	A± P+ 17 j. 11 j. Trt.
		J. A...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			Gan. M...	2 cc. I.-M. +2 cc .S.-C.	AoPo.
27-XI-38. AoPo.	5 jours après l'infection.	T. A...	20 cc. I.-V.	A+ P+ 18 j. 14 j. Trt.	27-XI-38. AoPo.	5 jours après l'infection.	S. M...	20 cc. I.-V.	A+ P+ 16 j. 12 j. Trt.
		I. A...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			Cer. M...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.
28-XI-38. AoPo.	6 jours après l'infection.	G. N...	20 cc. I.-V.	AoPo.	28-XI-38. AoPo.	6 jours après l'infection.	Tc. S...	20 cc. I.-V.	AoPo.
		M. A...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			Pr. V...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.
29-XI-38. AoPo.	7 jours après l'infection.	C. M...	20 cc. I.-V.	AoPo.	29-XI-38. AoPo.	7 jours après l'infection.	Pm. R...	20 cc. I.-V.	AoPo.
		S. M...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.			Ro. N...	2 cc. I.-M. +2 cc. S.-C.	AoPo.

Situation du donneur I (Naz. V...) dans les premiers heures après l'infection. Transfusion du 200 cc. de sang virulent. Nombre des parasites aux champs microscopiques après: 15ì = 1/500; 30ì = 2/100; 45ì = 3/100; 1 h. = 1/100; 2 h. = 2/100; 3 h. = 2/100; 4 h. = 1/100; 5 h. = 1/100; 6 h. = 4/100; 1 j. = AoPo; 25-XI-38 - 29-XI-38 = AoPo.

Situation du donneur II (Cr. Mat...) dans les premières heures après l'infection. Transfusion de 150 cc. de sang virulent. Nombre des parasites aux champs microscopiques après; 15ì = 1/500; 30ì = 2/400; 45ì = 2/200; 1 h. = 3/200; 2 h. = 2/100; 3 h. = 3/200; 4 h. = 4/200; 5 h. = 2/200; 6 h. = 2/200; 1 j. = 2/200; 2 j. = AoP+; 3 j. = AoP+; 27-XI-38 - 29-XI-38 = AoPo.

REMARQUES: 1° Très légère augmentation du nombre des parasites au cours des six premières heures après l'infection.

2° Sang virulent — démontré par l'infection positive des récepteurs — au cours des cinq premiers jours, malgré le traitement (atébrine: 03,0×5) et malgré les résultats négatifs de l'examen du sang sur lame (goutte épaisse).

3° Le sang n'est plus virulent à partir du deuxième jour après la fin du traitement, et du sixième jour après le début du traitement de l'infection. En général, dans le traitement de l'infection au *Pl. falciparum*, l'atébrine fait disparaître les trophozoïtes du sang périphérique (goutte épaisse) en 4,1 jours après le début du traitement. (« Contributions à l'étude de *Pl. falciparum* ». *Arch. roum. de Path. exp. et de Microb.*)

L'examen négatif de trois gouttes épaisses n'exclut pas la présence d'un parasitisme latent qu'on peut mettre en évidence par inoculation intraveineuse de 20 centimètres cubes de sang à de nouveaux sujets.

Les résultats de ces recherches suggèrent que la valeur d'une méthode de prophylaxie à l'atébrine sur le terrain dépendra du potentiel et du stade des éventuelles infections et des réinfections au cours desquelles l'organisme pourrait être protégé par le médicament.

* * *

Prophylaxie à l'aide de l'atebrine dans le cas d'infections répétées a sporozoïtes de *P. falciparum*. — Nous rappelons ici l'intérêt soulevé par l'emploi de l'atébrine dans la prophylaxie collective sur le terrain, administrée par différents auteurs à des intervalles de 3, 7, 10 et même 15 jours. Les résultats satisfaisants de certaines de ces méthodes différaient naturellement, selon les doses, la méthode d'administration de l'atébrine, les différents degrés de l'endémicité locale et le caractère saisonnier de l'infection. Les recherches expérimentales dont les détails suivent ci-dessous, apporteront aux malariologistes une explication des faits constatés sur le terrain dans les conditions, à inconnues nombreuses, de l'infection naturelle spontanée.

1° *Infection au* P. falciparum.

Groupe A : Inoculation intraveineuse de sporozoïtes une fois par semaine pendant trois semaines, administration journalière de 0,06 gr. d'atébrine au cours du même intervalle. La dernière dose d'atébrine suivait de 7 jours la 3e inoculation de sporozoïtes.

OBSERVATIONS

Gr. E..., 9-v-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	31.000	0,06×7 j.			
2e....	35.000	0,06×7 j.	+12e j.	+10e j.	
3e....	21.000	0,06×7 j.	+	+	Accès intermittents.
4e....	—	—	+	+	Etat sous-fébrile.
5e....	—	—	+	+	» »
6e....	—	—	+	+	» »

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
7e....	—	—			
8e....	—				Parasitisme intermittent.
9e....			—		
10e-16e.	—	—		—	

(Observation arrêtée le 23-IX-38.)

R. A..., 9-V-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1er....	34.200	0,06×7 j.	—	—	
2e....	26.700	0 06×7 j.	—	—	
3e....	21.000	0,06×7 j.		—	
4e....	—	—	—	—	Un jour de fièvre? sans parasite.
5e....	—	—	—	—	
6e....	—	—	—		
7e....	—	—			
8e....	—	—	—		
9e....	—	—	—	+57e j.	Disparition spontanée.
10e....	—	—	—	+	» »
11e-42e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 11-III-39.)

A. E..., 9-V-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	38.400	7×0,06 j.	—	—	
2e....	44.000	7×0,06 j.	+13e j.	+13e j.	Fièvre en plateau, 4 jours.
3e....	33.200	7×0,06 j.	+	+	Etat sous-fébrile.
4e....	—	—	+	+	» fébrile.
5e....	—	—	+	+	Accès quotidiens.
6e....					
7e....	La malade a été traitée.				
8e-12e.	—	—			

(Observation arrêtée le 4-VIII-38.)

L. O..., 9-v-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	28.500	0,06×7 j.	—	—	
2e....	27.200	0,06×7 j.	+11e j.	+10e j.	Accès quotidiéns.
3e....	27.900	0,06×7 j.	+	+	» »
4e....	—	—	+	+	Fièvre irrégulière.
5e....	—	—	+	+	Accès irrégulier.
6e....	—	—	+	+	Etat sous-fébrile.
7e....	—	—	+	+	» »
8e....	—	—	—	+	Disparition spontanée.
9e-16e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 16-IX-38.)

Résumé : L'insuffisance des doses réduites journalières d'atébrine est évidente dans l'infection provoquée au *Pl. falciparum*. Les réinfections pendant la maladie clinique n'aggravent pas l'état général du malade.

2° La rétention de l'atébrine dans l'organisme est-elle suffisante, dans la prophylaxie médicamenteuse pour permettre de diminuer les doses subséquentes d'atébrine ?

Groupe B : Un groupe de 4 paralytiques a donc reçu, en but de malariathérapie, des inoculations endoveineuses bi-hebdomadaires massives de sporozoïtes pendant quatre semaines. Les malades étaient soumis aux mêmes jours à un traitement prophylactique hebdomadaire avec des doses décroissantes d'atébrine variant de 0,40 × 2 jours à 0,05 × 2 jours par semaine; la dernière dose d'atébrine coïncidait avec la dernière inoculation de sporozoïtes.

La durée de l'incubation a été calculée depuis la date de la 1er inoculation de sporozoïtes; dans la rubrique « remarques », le lecteur trouvera aussi l'incubation calculée à partir de la dernière inoculation de sporozoïtes.

OBSERVATIONS

V. E..., 9-À-38.

Semaine	Sporozoïtes inoculés	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	30.400+32.400	0,40+0,40	—	—	
2e....	64.800+28.000	0,20+0,20		—	
3e....	24.900+35.000	0,10+0,10	—	—	
4e....	32.000+21.000	0,05+0,05	—	—	
5e....	—	—		—	
6e....	—	—			
7e....	—	—	+44e j.	+46e j.	Forme clinique régulière, 19 jours après la dernière infection et la dernière dose d'atébrine (0.05).
8e....	—	—	+	+	
9e....	—	—	+	+	
10e-12e.	—	—	+	—	
13e....	—	—	+	+	2 accès de tierce.
14e....	Traitem.atébr.:	0,30×7 j.	+	—	
15e....	—	—	+	—	
16e....	—	—	+	—	
17e-35e.	—	—			

(Observation arrêtée le 23-VIII-39.)

L. E..., 9-V-38.

Semaine	Sporozoïtes inoculés	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re ...	33.000+27.200	0,40+0,40			
2e....	49.000+24.800	0,20+0,20	±13e j. =	—	Très rares anneaux. Disparition spontanée.
3e....	19.800+35.600	0,10+0,10	—	—	»
4e....	32.000	0,05+0,05	±23e j. =	—	»
5e....	—	—	±34e j. =	—	»
6e....	—	—	+	—	Infection parasitaire, rien que de rares formes jeunes.
7e....	—	—	+	—	
8e-14e.	—	—	—	—	Pas de gamétocytes jusqu'à disparition spontanée des parasites.

(Observation arrêtée le 22-VIII-38.)

E. N..., 9-V-38.

Semaine	Sporozoïtes inoculés	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re ...	50.000+32.000	0,40+0,40	0	0	Tolérance aux 2 doses de 0,40.
2e....	65.600+29.600	0,20+0,20	0	0	
3e....	29.600+32.800	0,10+0,10	+15e j.	+	Etat sous-fébrile.
4e....	31.600+21.000	0,05+0,05	+	—	
5e....	—	—	+	—	
6e....	—	—	+	+	10 jours après la dernière infection et la dernière dose d'atébrine, *forme quotidienne* régulière.
7e....	—	—	+	+	
8e....	Traitem.atébr.: 0,30×7 j. après le 10 accès.		+	—	
9e....	—	—	—	—	
10e-12e.	—	—	—	—	

Observation arrêtée le 24-VII-38.)

B. N. v. 38.

Semaine	Sporozoïtes inoculés	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re ...	46.000+48.800	0,40+0,40	—	—	
2e....	45.000+32.500	0,20+0,20	—	—	
3e....	21.300+32.800	0,10+0,10	+15e j.	—	Apparition d'un jour de rares anneaux.
4e....	31.600	0,05+0,05	—	—	
5e....	—	—	—	—	
6e....	—	—	+37e j.	+38e j.	Forme clinique régulière, 17 jours après la dernière infection, et 14 dose d'atébrine.
7e....	Traitem. atébr.: 0,30×7 j.		+	+	
8e....	—	—	+	—	On n'a pas trouvé de gamétocytes, malgré une résistance particulière des trophozoïtes (10 jours) à la dose thérapeutique d'atébrine 0,30×7 j.
9e-21e.	—	—	—	—	
22e....	—	—	+TB sp.	+	
23e....	Traitem. atébr.: 0,30×7 j.		+	—	
24e-25e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 26-XI-38.)

Résumé (tableau VIII): Dans les conditions de nos essais (infections massives répétées), le pouvoir protecteur de l'atébrine administrée en doses thérapeutiques dure autant que l'administration du traitement prophylactique.

En 3 sur 4 cas, la maladie clinique paraît être la conséquence de la dernière inoculation de sporozoïtes qui ne se trouvait sous l'influence que d'une dose insuffisante d'atébrine (2 × 0,05 par semaine).

Dans des conditions sévères de réinfections, l'hypothèse de l'accumulation dans l'organisme d'une quantité suffisante d'atébrine pour corriger les doses décroissantes subséquentes ne se vérifie pas.

Il ne paraît pas que la rétention des premières doses fortes d'atébrine ait été suffisante pour corriger l'insuffisance des doses réduites subséquentes. L'incubation après la dernière infection a été de 7 jours pour les parasites et de 10 jours pour les accès.

* * *

3° *Infection au* Pl. falciparum.

Groupe C: Quatre sujets reçoivent, aux fins de traitement, pendant *trois semaines* consécutives, une inoculation hebdomadaire intraveineuse de sporozoïtes de *Pl. falciparum*, sous la protection d'une *dose hebdomadaire de 0,30 gr.* d'atébrine, administrée pendant *six semaines* (au cours des trois dernières semaines, il n'y a donc pas eu de nouvelles infections aux sporozoïtes). Trois sujets témoins ont eu une seule inoculation de sporozoïtes seulement et n'ont pas été traités.

Voici le résumé des observations faites sur nos sujets:

(T. M.) R. 78

C. F..., 11-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition		Remarques
			A.	P.	
1re ...	20.700	0,30	—	—	Infection, 1er et 7e jours
2e	14.400	0,30	—	—	
3e	22.800	0,30	—	—	Fin de semaine (infection)
4e	—	0,30	±	—	1 accès?
5e	—	0,30	±	—	
6e	—	0,30	—	—	

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarque
7e....	—	—		—	
8e....	—	—			
9e....	—	—		—	
10e-20e.		—		—	

(Observation arrêtée le 9-IV-39.)

L. O..., 11-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	17.700	0,30	—	—	Infection, 1er et 7e jours.
2e....	22.500	0,30	—	±	13e jour, inc.
3e....	27.000	0,30	+	±	
4e....	—	0,30	—	±	1 accès.
5e....	—	—	—	±	
6e....	—	0,30	—	±	
7e....	—	—	+	+	5 accès quotidiens, forme sévère.
8e....	—	0,30×3 j.	—	+	6 accès. Traitem. atébr.: 0,30×3 j.
9e....	—	0,30×4 j.	+	+	
10e....	—	—	—	+	
11e-20e.	—				

(Observation arrêtée le 9-V-39.)

Grig. Vasil..., 4-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	41.400 (1)	0,30	—	—	(1) 1 et 7 jours.
2e....	24.400	0,30	—	—	
3e....	18.400	0,30	±14e j.	±11e j.	1 accès.
4e....	—	0,30	±	+	2 accès.
5e....	—	i0,30	±	—	
6e....	—	0,30	—	—	
7e....	—	—	±	—	
8e....	—	—	±	—	
9e....	—	—	±	+	
10e....	—	—	+	+	Accès quotidiens.
10e-13e.	—	—	+	+	
13e-16e.	—	—	—	—	
17e....			+	+	

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
18e....			±	±	
19e....			+	+	
20e....	—	—	+	+	1 accès.
21e....	Atébrine: 0,30×7 j. Certuna : 0,02×5 j.		+	—	
22e-30e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 3-VI-39.)

Bâz. Antoaneta, 2-VI-39.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	24.000 (1)	0,30	—	—	(1) 1er et 7e jours.
2e....	12.300	0,30	—	—	
3e....	24.000	0,30	+	+	1 accès.
4e....	—	0,30	+	—	
5e....	—	0,30	—	—	
6e....	—	0,30	—	—	
7e....	—	—	+	+	1 accès.
8e....	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 26-VII-39.)

TÉMOINS (T. M.) R. 78

V. E...	24.000 sporozoïtes.	A+P+ 11 j. 11 j.	8 accès traités atébr. 0,30×7 jours.
A. M...	22.000 »	A+P+ 10 j. 10 j.	9accès Cortipan:1gr.×7j. (sans action). Q.:1gr.×7j.
B. A...	103 piqûres.	A+P+ 13 j. 12 j.	6 accès Q.: 1 gr.×10 j.

Résumé : Sur les 4 cas soumis à des infections hebdomadaires et protégés par une dose hebdomadaire d'atébrine, qu'on a continuée au cours de trois semaines suivant la dernière infection, 2 ont présenté la maladie (accès et parasites), une à deux semaines après l'administration de la dernière dose d'atébrine; un sujet a présenté une infection avortée éphémère; le quatrième n'a présenté ni fièvre ni parasites au cours d'une période d'observation de 20 semaines.

TABLEAU VIII. — Infections répétées au *Pl. falciparum* (M. T.) R. [78]. Prophylaxie à l'atébrine.

Groupes	Nos des sujets	Nombre des inoculations de sporozoïtes	Atébrine			Résultats de l'infection				Durée d'incubation par rapport à la dernière incubation		Période d'observation
			Dose journalière	Dose bi-hebdomadaire	Dose hebdomadaire	A+P+	A±P+	AoP	AoPo	Régulière (normale)	Prolongée	
A.	4	3 inoc. hebdomadaires.	0,06×21 j			3		1		3	1	18-42 sem.
B.	4	2 inoc. hebdomadaires×4		0,40×2 p.s. 0,20×2 p.s. 0,10×2 p.s. 0,05×2 p.s.		3		1		2	1	12-35 sem.
C.	4	2 inoc. hebdomadaires.			0,30×6 s.	2	1		1	3		20-35 sem.
Témoins non traités	3	1 inoc.				3				3		5-35 sem.

Tous les 3 témoins, ayant reçu une seule inoculation de sporozoïtes, ont présenté l'infection après une période d'incubation de 10 à 13 jours.

* * *

Infection au *Pl. vivax* (B. T.) H. O. H. R. (tableau IX). — Des recherches comparées sur les différentes méthodes d'administration de l'atébrine chez de sujets soumis à la malariathérapie ont donné les résultats suivants:

1° Infection massive hebdomadaire de 4 sujets par inoculation de sporozoïtes dans la veine, pendant 3 semaines. Dose journalière d'atébrine: 0,06 × 21 jours; la dernière dose était administrée 6 jours après la dernière inoculation de sporozoïtes. Quantité totale d'atébrine: 1 gr. 26.

Groupe E:

OBSERVATIONS

1. *M. T...*, 25-VII-37.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	17.500	0,06×7 j.	—	—	
2e....	23.600	0,06×7 j.	—	—	
3e....	12.000	0,06×7 j.	—	—	
4e....	—	—	—	—	
5e....	—	—	—	—	
6e....	—	—	—	—	
7e....	—	—	+45e j.	+45e j.	30 jours après la dernière infection. Accès quotidien.
8e....	—	—	+	+	»
9e-14e.	—	—			Disparition spontanée.
15e....	—	—	+	—	
16e....	—	—	+		
17e....	—	—	+	+	3 accès quotidiens.
18e-47e.	—	—		—	

(Disparition spontanée jusqu'au 26-X-38.)

(T. B.) H. O. H. R.

2. *H. Al...*, 18-XII-37.

Semaine	Sporozoïtes par. cc.	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	12.000	0,06×7 j.	—	—	
2e....	25.000	0,06×7 j.	—	—	
3e....	28.000	0,06×7 j.	—	—	
4e....	—	—	+250e j.	—	11 jours après la dernière infection.
5e....		—	+		
6e....	—	—	+	—	Disparition des parasites le 36 jour.
7e....	—		—	—	
8e....	—	—	+	—	
9e....	—	—	+	—	
10e....	—	—	—	—	
11e....	—	—	+	—	Apparition temporaire.
12e....	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 17-III-38.)

3. *Sid. Al...*, 18-XII-37.

Semaine	Sporozoïtes par. cc.	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	6.800	0,06×7 j.	—	—	
2e....	12.000	0,06×7 j.	—	—	
3e....	21.000	0,06×7 j.	—	—	
4e....	—		+28e j.	—	14 jours aprés la dernière infection.
5e....	—	—	+	—	
6e....	—	—	+	+	2 accès de tierce, 27 jours après la dernière infection.
7e....	—	—	+	—	
8e....	—	—	—	—	
9e....	—		+	—	
10e....	—	—	+	—	Disparition des parasites le 68e jour.
11e-66e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 20-III-38.)

4. *R. E...*, 18-XII-37.

Semaine	Sporozoïtes par cc.	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	14.720	0,06×7 j.	—	—	
2e....	20.000	0,06×7 j.	—	—	
3e....	14.000	0,06×7 j.	—	—	
4e....	—	—	+28e j.	—	14 jours après la dernière infection.
5e....	—	—	+	+	Etat sous-fébrile, 17 jours après la dernière infection.
6e....	—	—	+	—	Disparition des parasites le 38 jour.
7e-15e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 8-IV-38.)

Remarque : Sur les 4 malades traités, 3 ont présenté — quelque temps après — des formes cliniques bénignes de la maladie; l'un n'a fait qu'une infection parasitaire. Tous les cas ont guéri sans intervention du traitement.

2° Inoculation endoveineuse hebdomadaire de sporozoïtes pendant 3 semaines.

Doses bi-hebdomadaires d'atébrine: 0,20 pendant 3 semaines.

Intervention du traitement le jour de l'inoculation et *5 jours* après; la dernière dose d'atébrine a été administrée 4 jours après la dernière inoculation de sporozoïtes. Quantité totale d'atébrine: 1 gr. 20.

Groupe F :

OBSERVATIONS

T. I..., 18-XII-37.

Semaine	Sporozoïtes par mmc.	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	8.000	0,20×2 j.	—	—	
2e....	20.600	0,20×2 j.	—	—	
3e....	15.200	0,20×2 j.	—	—	
4e....	—	—	—	—	

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
5e....	—	—	—	—	
6e....	—	—	+38e j.(1)	±	(1) 25 jours après la dernière infection. Un crochet fébrile unique.
7e....	—	—	+	—	
8e....	—	—	+	+	3 accès de tierce, 38 jours après la dernière infection.
9e....	—	—	+	+	Accès irréguliers.
10e....	—	—	+	+	Accès irréguliers.
11e-17e.	—	—	±	?	Malade agitée ; on n'a pas pu prendre la température.
			—		
			—		
18e....	—	—	+	+	2 accès.
19e-43e.	—	—	±	0	Apparition intermittente de parasites.
44e-67e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 23-III-39.)

C. A..., 18-XII-37. (T. B.)

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	9.200	0,20×2 j.	—	—	
2e....	9.000	0,20×2 j.	—	—	
3e....	11.000	0,20×2 j.	—	—	
4e....	—	—	—	—	
5e....	—	—	±34e j. 1)	—	(1) Apparition intermittente, 21 jours après la dernière infection.
6e....	—	—	—	—	Apparition intermittente.
7e....	—	—	—	—	
8e....	—	—	+	—	Parasitisme continu.
9e....	—	—	+	—	
10e....	—	—	—	—	
11e-12e.	—	—	—	—	Parasitisme intermittent.
13e-18e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 25-IV-38.)

S. M. 18-XII-37.

Semaine	Sporozoïtes par mmc.	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re	7.400	0,20×2 j.	—	—	
2e	25.200	0,20×2 j.	—	—	
3e	7.600	0,20×2 j.	—	—	
4e	—	—		—	
5e	—			—	
6e	—				
7e	—	—	—	+ ?	Etat sous-fébrile.
8e	—	—	+60e j.(1)	+	» »
					(1) 39 jours après la dernière infection.
9e	—	—	+	—	
10e	—	—			
11e	—		—		
12e			+	—	
13e	—	—	+	+87e j.	4 accès quotidiens.
14e	—	—	+	+	Etat sous-fébrile.
15e	—	—	—	—	Disparition spontanée.
16e	—	—	—	—	
17e-33				—	

(Observation arrêtée le 4-X-38.)

I. Gh.... 18-XII-37.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re	9.000	0,20×2 j.	—	—	
2e	19.500	0,20×2 j.	—	—	
3e	7.000	0,20×2 j.	—	—	
4e	—	—	—	—	
5e	—	—	—	—	
6e	—	—	—	—	
7e	—	—	—	—	
8e	—	—	+56e j. (1)	—	(1) 44 jours après la dernière infection.
9e	—	—	+	+57e j.	3 accès légers, 45 jours après la dernière infection.
10e		—	+	—	
11e	—	—	+	—	
12e	—	—	+	+	2 accès quotidiens.
13e	—	—	+	+	3 accès de tierce.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
14e....	—	—	+	+	3 accès de tierce.
15e....	—	—	+	+	Accès irréguliers.
16e....	—	—	+	—	Etat sous-fébrile.
17e....	—	—	—	—	
18e....	—	—	±	—	Parasitisme discret.
19e-45e.	—	—	±	—	Parasitisme intermittent.
46e-57e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 21-VII-39).

Résumé : Nous rappelons ici que la dernière dose d'atébrine suivait de 5 jours la dernière infection de sporozoïtes.

Sur 4 cas traités avec des doses bi-hebdomadaires de 0,20 gr. d'atébrine: un a fait une infection purement parasitaire *après le 34 jour de la première infection et le 21 jours après la dernière infection*; les trois autres ont présenté la maladie clinique, avec une période d'incubation respectivement de 52, 57 et 87 jours (après la première infection); de 38, 45 et 53 jours (après la dernière infection).

Dans tous les cas, la forme clinique, bénigne et avec tendance à l'état chronique, a guéri spontanément sans intervention d'un nouveau traitement.

3° Dans un groupe de 5 sujets, l'infection par inoculation endo-veineuse hebdomadaire de sporozoïtes a été pratiquée dans les mêmes conditions.

L'administration bi-hebdomadaire de 0,20 gr. d'atébrine a été continuée trois semaines de plus (après la dernière infection) pour couvrir une période d'incubation assez prolongée.

Groupe G :

OBSERVATIONS

M. N..., 15-III-38. Atébrine = 2 gr. 40.

Semaine	Sporozoïtes par mmc.	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	29.200	0,20×2 j.	—	—	
2e....	25.500	0,20×2 j.	—	—	
3e....	25.000	0,20×2 j.	—	—	
4e....	—	0,20×2 j.	—	—	
5e....	—	0,20×2 j.	—	—	

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
6e....	—	0,20×2 j.	—	—	
7e....	—	—	—	—	
8e....	—	—	—	—	

(Observation arrêtée 15-V-38).

B. E..., 15-III-38. Atébrine = 2 gr. 40.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	35.000	0,20×2 j.	—	—	
2e....	45.600	0,20×2 j.	—	—	
3e....	23.200	0,20×2 j.	?	—	
4e....	—	0,20×2 j.	—	—	
5e....	—	0,20×2 j.	—	—	
6e....	—	0,20×2 j.	—	—	
7e-15e.	—	—	—	—	
15e-18e.	—	—	—	—	
19e....	—	—	+133e j.	+132e j.	119 jours après la dernière infection.
20e....	—	+	+	+	5 accès de tierce.
21e....	—	—	+	+(1)	3 accès quotid.(1) 3 tierces
22e....	—	—	+	+	
23e....	—	—	+	—	2 tierces.
24e....	Traitem. atébr.: 0,30×7 j.		+	—	
25e....	—	—	+	—	
26e....	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 7-IX-38.)

M. P..., 15-III-38. Atébrine = 2 gr. 40.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	20.000	0,20×2 j.	—	—	
2e....	28.000	0,20×2 j.	—	—	
3e....	24.400	0,20×2 j.	—	—	
4e....	—	0,20×2 j.	—	—	
5e....	—	0,20×2 j.	—	—	
6e....	—	0,20×2 j.	—	—	
7e-15e.	—	—	—		
26e....	—	—	+194e j.	—	Disparition spontanée des parasites après 26jours.
27e-29e.	—	—	+	—	
30e-57e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 3-V-39.)

C. El... (+ tuberculose pulmonaire), 15-III-38. Atébrine = 2 gr. 40.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	24.400	0,20×2 j.	—	—	
2e....	47.600	0,20×2 j.	—	+	Tuberculose pulmonaire.
3e....	25.000	0,20×2 j.	—	—	
4e....	—	0,20×2 j.	—	—	
5e....	—	0,20×2 j.	—	—	
6e....	—	0,20×2 j.	—	+?	
7e....	—	—	±	+?	Très rare.
8e....	—	—	—	+?	
9e....	—	—	—	+?	
10e-16e.	—	—	—	+?	Fièvre tuberculose.

(Observation arrêtée le 2-VII-38.)

D. D..., 15-III-38. Atébrine = 2 gr. 40.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	39.000	0,20×2 j.	—	—	
2e....	26.400	0,20×2 j.	—	—	
3e....	24.000	0,20×2 j.	—	—	
4e....	—	0,20×2 j.	—	—	
5e....	—	0,20×2 j.	—	—	
6e....	—	0,20×2 j.	—	—	
7e-16e.			—	—	
16e-32e.			—	—	
33e....	—	—	+186e j.	+186e j.	165 jours après la dernière infection, 3 accès type tierce. Disparition spontanée.
34e....	—	—	+	—	
35e-39e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 14-XII-38.)

Résumé. Des 5 sujets appartenant à ce groupe: un reste AoPo pendant 8 semaines, 2 semaines après la fin du dernier traitement; 2 font la maladie clinique après une incubation de 133 et 186 jours; 2 font une infection parasitaire après une incubation respective de 194 et 152 jours après la dernière dose de médicament.

Ce groupe de malades confirme une certaine efficacité de la prophylaxie bi-hebdomadaire à l'atébrine, *si ce traitement est prolongé 3 semaines après la dernière infection.*

Ces observations confirment en même temps celles constatées de longue date, par de nombreux auteurs, sur la nécessité de continuer un certain temps l'administration d'un médicament paludéen après avoir quitté une région paludéenne.

4° Un groupe de 5 sujets a reçu dans la veine, pendant 4 semaines, 2 inoculations de sporozoïtes par semaine.

L'atébrine a été administrée par doses décroissantes: de 0,40 × 2 jours à 0,05 × 2 jours. La dernière dose d'atébrine (de 0,05) précédait d'un jour la dernière infection. Quantité totale d'atébrine: 1 gr. 50.

La période d'incubation des deux dernières inoculations n'etait donc pas couverte par le traitement préventif.

Groupe H :

OBSERVATIONS

I. E..., 25-XII-37. Atébrine = 1 gr. 50.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	16.500+14.200	0,40×2 j.	—	—	
2e....	13.800+13.500	0,20×2 j.	—	—	
3e....	13.200+10.200	0,10×2 j.	—	-	
4e....	12.000+14.000	0,05×2 j.	—	—	
5e....	—	—	—	+35e j.(1)	(1) 6 jours après la dernière infection.
6e....	—	—	+36 j.(1)	+37e j.	5 accès quotidiens (1), 11 jours après la dernière infection.
7e....	—	—	+	+	7 accès quotidiens.
8e....	—	—	+	+	Accès irréguliers.
9e....	—	—	+	+	Accès irréguliers.
10e....	Traitem. atébr.:	0,30×7 j.	+	+	7 accès quotidiens.
11e....	—	+	+	—	
12e-17e.	—	—	—	—	
18e-23e.	—	—	±	—	
24e-27e.	—	—	—	—	
28e-34e.	—	—	—	—	
35e-73e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 14-V-39.)

D. E..., 25-XII-37. Atébrine = 1 gr. 50.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	16.500+34.600	0,40×2 j.	—	—	
2e....	16.500+16.800	0,20×2 j.	—	—	
3e....	20.400+10.200	0,10×2 j.	—	—	
4e....	14.700+25.600	0,05×2 j.	—	—	
5e....	—	—	—	—	
6e....	—	—	+37e j.	+40e j.	Etat sous-fébrile. 10 jours après la dernière infection.
7e....	—	—	+	+	2 accès de tierce.
8e....	—	—	+	—	Guérison spontanée.
9e-14e.	—	—	—	—	
19e-34e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 26-VIII-38.)

C. C..., 25-XII-37. Atébrine = 1 gr. 50.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	18.000+16.200	0,40×2 j.	—	—	
2e....	10.600+16.400	0,20×2 j.	—	—	
3e....	8.600+10.200	0,10×2 j.	—	—	
4e....	17.400+35.700	0,05×2 j.	—	—	
5e....	—	—	+35 j.	—	8 jours après la dernière infection.
6e....	—	—	+	+41 j.(1)	(1) 7 accès quotidiens, 10 jours après la dernière infection.
7e....	—	—	+	+	
8e....	—	—	+	+	2 accès quotidiens suivis de guérison spontanée.
9e-12e.	—	—	—	—	
15e-16e.	—	—	+	—	Porteur intermittent.
15e-16e.	—	—	+	—	Porteur intermittent.
17e-18e.	—	—	+	—	Disparition spontanée.
19e....		—	—	—	
20e....	—	—	+	+	
21e-25e.	—	—	—	—	
26e....	—	—	+	-	
27e-47e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 7-XII-38.)

St. E..., 25-XII-37. Atébrine = 1 gr. 50.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	17.400+46.200	0,40×2 j.		—	
2e....	17.600+12.000	0,20×2 j.	—	—	
3e....	13.600+ 9.000	0,10×2 j.		—	
4e....	24.000+22.000	0,05×2 j.	—	—	
6e....	—	—	+35e j.(1)	—	(1) 8 jours après la dernière infection.
6	—	—	+	+	Etat sous-fébrile, 15 jours après la dernière infection.
7e....	—		+	+	Accès irréguliers.
8e....	—	—	+		
9e....	—	—	—	—	
10e....	—	—		—	
11e....	—	—	+	—	Apparition intermittente.
12e....	—	—	—	—	
13e-79e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 14-VII-39.)

H. P..., 25-XII-37. Atébrine = 1 gr. 50.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	49.500+49.600	0,40×2 j.	—	—	
2e....	36.600+29.000	0,20×2 j.	—	—	
3e....	15.600+ 9.000	0,10×2 j.	—	—	
4e....	37.500+32.500	0,05×2 j.			
5e....		—		—	
6e....	—	—	+38e j.	+39e j.(1)	(1) Etat fébrile, 11 jours après la dernière infection (1 seul accès, 38°).
7e....	—	—	+	—	Apparition irrégulière.
8e-14e.	—	—	—	—	
15e....	—	—		—	
16e....	—	—	+	—	
17e....	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 18-IV-38.)

Résumé : Dans les conditions de prophylaxie médicamenteuse de ce groupe, tous les sujets (sans exception) ont fait, au cours de la sixième semaine d'expérience, une forme clinique de la

maladie. Les deux dernières inoculations de sporozoïtes et les deux doses minimes d'atébrine étaient administrées au cours de la 4 semaine. Dans les conditions de nos essais, l'accumulation des fortes doses d'atébrine de la 1re semaine n'a pas pu compléter les doses décroissantes subséquentes. Il est utile de rappeler encore une fois que la période d'incubation des deux dernières inoculations de sporozoïtes n'était pas couverte par le traitement.

5° Six sujets ont reçu, trois semaines de suite, une inoculation endoveineuse hebdomadaire de sporozoïtes de *Pl. vivax*.

Une dose hebdomadaire d'atébrine de 0,30 gr. a été administrée pendant six semaines; au cours des trois dernières semaines, il n'y a pas eu de nouvelles inoculations de sporozoïtes.

Période d'observation: 11-36 semaines.

Groupe I :

OBSERVATIONS

P. C..., 25-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	16.400	0,30	—	—	
2e....	33.000	0,30	A±	+	11 jours de l'incubation P. 12 jours de l'incubation A. 2 accès.
3e....	20.000	0,30	—	—	
4e....	—	0,30	—	—	
5e....	—	—	—	—	
6e....	—	0,30	—	—	
7e....	—	0,30	—	—	
8e-11e.	—	—	—	—	
12e....	—	—	+	+	2 accès.
13e....	—	—	+	+	4 accès.
14e....	Traitem. atébr.: 0,30×7 j.		±	+	
15e-24e.	—	—	—	—	
25e....	—	—	+	+	1 seul accès. Disparition spontanée.
26e-28e.	—	—	±	—	
29e....	—	—	+	+	1 seul accès. Disparition spontanée.
30e-33e.	—	—	+	—	
34e-36e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 26-VIII-39.)

I. M..., 25-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	26.000	0,30	—	—	
2e....	37.000	0,30	—	—	
3e....	22.000	0,30	+	+	15 jours d'incubation; 2 accès.
4e....	—	0,30	—	± =	
5e....		0,30	+	—	1 accès sans parasites.
6	—	0,30	—	—	
7	—	0,30	—	—	
8 -11 .		—	—	—	

(Observation arrêtée le 5-II-39.)

R. C..., 25-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	23.000	0,30	—	—	
2e....	66.000	0,30	±	+	11 jours d'incubation.
3e....	25.000	0,30	—	± =	3 jours P.
4e....	—	0,30	—	± =	P., 1 seul jour.
5e....		0,30	—	—	
6e....	—	0,30	—	± =	1 seul jour.
7e....	—	—	—	—	
8e-36e.	—		—	—	

(Observation arrêtée le 26-VIII-39.)

Cr. Sim., 25-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
1re...	29.000	0,30	+	—	Non spécifique? Fièvre, 3 jour suivant l'inoculation.
2e....	35.000	0,30	—	+	11e jour suivant l'inoculation.
3e....	17.000	0,30	—	+	

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition P.	Apparition A.	Remarques
4e....	—	0,30	—		
5e....	—	—	—		
6e....	—	0,30	—	—	
7e-11e.	—	0,30	—	—	
12e....	—	—	+	+	2 accès.
13e....	—	—	+	+	1 accès.
14e....	—	—	—		
15e....	—	—	+	+	2 accès quotidiens.
16e....	—	—	—	—	
17e....	—	—	+	—	
18e....	—	—	—	—	
19e-28e.	—	—	±	—	Porteur intermittent de parasites.
29e-30e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 26-VII-39.)

Gr. Ir..., 25-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	14.400	0,30	—	—	
2e....	18.600	0,30	—	—	
3e....	33.600	0.30	—	—	
4e....	—	0,30	—	—	
5e....	—	0,30	—	—	
6e....	—	—	—	—	
7e....	—	0,30	±	+	2 accès de tièrce suivent de 3 jours l'administration de l'atébrine.
8e....	—	0,30	+	+	4 accès de tierce sous-fébrile.
9e....	—	—	+	+	
10e-15e.	—	—	—	+	
16e-21e.	—	—	—	—	
22e....	—	—	+	+	1 seul accès.
23e-25e.	—	—	—	—	
26e-33e.	—	—	—	+	Porteur intermittent de parasites.
34e-36e.	—	—	—		

(Observation arrêtée le 26-VIII-39.)

Potapov N..., 25-XI-38.

Semaine	Sporozoïtes	Atébrine	Apparition A.	Apparition P.	Remarques
1re...	17.500	0,30	—		
2e....	40.200	0,30	+	+	2 accès.
3e....	—	0,30	—	+	
4e....	—	0,30	—	—	
5e....	—	0,30	—	—	
6e....	—	0,30	—	—	
7e....	—	—	—	—	
8e....	—	—	—	—	
9e....	—	—	—	—	
10e....	—	—	—	—	
11e....	—	—	+	—	1 seul accès (40°).
12e-15e.	—	—	—	—	
16e....	—	—	+	+	1 accès.
17e....	—	—	—	+	
18e....	—	—	—	±	
19e-20e.	—	—	—	—	

(Observation arrêtée le 6-V-39.)

Témoins : Ayant reçu une seule inoculation de sporozoïtes.

A... R.J. R.J... Sn.Fr...			
C. A...	75 piqûres de moustiques.	A±P+ 16 j. 13 j.	12 semaine.
R. J...	Inoculation i.-v. de sporozoïtes.	A+P+ 10 j. 10 j.	Forme sévère. Accès quotidiens traités. 11 semaine.
Sn.Fr...	17.000 sporozoïtes (immun).	AoPo	36 semaine.

Dans les conditions de nos essais, l'infection parasitaire n'a pas été empêchée sous la protection d'une dose hebdomadaire d'atébrine, malgré que la médication ait été poursuive pendant trois semaines encore après la dernière inoculation de sporozoïtes. Sur les 4 cas qui ont présenté la maladie clinique, les accès sont apparus, dans un cas trois jours après l'administration de la dernière dose d'atébrine, dans deux cas au cours de la deuxième semaine après la première infection. La forme de la maladie, très bénigne, n'a pas exigé l'intervention du traitement. Les deux autres cas n'ont présenté que temporairement des parasites, en nombre très restreint.

TABLEAU IX. — Infections répétées au *Pl. vivax* (T. B.) H. O. H. R.

Groupes	Nos des sujets	Nombre des inoculations de sporozoïtes	Atébrine			Résultats de l'infection				Durée d'incubation par rapport à la dernière infection		Période d'observation
			Dose journalière	Dose bi-hebdomadaire	Dose hebdomadaire	A+P+	A±P+	AoP+	AoPo	Régulière (normale)	Prolongée	
E.	4	3 inoc. hebdomadaires.	0,06×21 j			3		1		3	1	12-47 sem.
F.	4	3 inoc. hebdomadaires.		0,20×2 ×3 sem.		3		1			4	18-67 sem.
G.	5	3 inoc. hebdomadaires.		0,20×2 ×6 sem.		1	1	2	1		4	8-57 sem.
H.	5	2 inoc. par sem.×4		0,40×2 p. s. 0,20×2 p. s. 0,10×2 p. s. 0,05×2 p. s.		2	3			5		17-73 sem.
I.	6	3 inoc. hebdomadaires.			0,30×6 s.	3	3			4	2	11-36sem.
Temoins non traités.	3	1 inoc.				2			1	2		11-36 sem.

Sur les trois témoins ayant reçu chacun une inoculation de sporozoïtes, un n'a pas présenté l'infection. La période d'incubation des deux autres sujets a été respectivement de 11 et 16 jours.

Remarque. — On constate, en général, des variations individuelles qu'on ne saurait expliquer que par les différents degrés d'immunité acquise chez des sujets appartenant à un pays paludéen.

Sommaire et conclusions. — L'utilisation de l'infection intentionnellement provoquée aux fins de traitement, constitue la méthode expérimentale de choix pour vérifier et apporter une explication des observations recueillies sur le terrain, où les conditions d'infection et d'éventuelles réinfections locales au cours d'une saison paludéenne introduisent autant de facteurs de variation.

Dans la pratique de la malariathérapie, par laquelle on poursuit parallèlement des études sur l'infection paludéenne, la méthode endoveineuse d'inoculation d'une suspension de densité connue de sporozoïtes nous paraît préférable à la méthode par piqûres de moustiques (infectés expérimentalement). La constance des résultats obtenus avec la première méthode est similaire à celle obtenue dans les inoculations bactériennes expérimentales.

Des observations recueillies sur 166 sujets soumis à la malariathérapie (109 inoculés avec des sporozoïtes de *Pl. falciparum*, 27 inoculés avec des sporozoïtes de *Pl. vivax* et 30 inoculés avec du sang virulent de *Pl. falciparum*) apportent des précisions d'ordre expériemental à l'étude de l'action préventive de l'atébrine et de son action sur le parasite.

La méthode d'infection et de traitement à l'atébrine est donnée pour chaque groupe de malades, que nous rappellerons d'ailleurs dans ce sommaire pour faciliter la tâche du lecteur.

* * *

Infection à sporozoites de P. falciparum; traitement préventif comparé de 5 jours à l'atébrine (0.30 p. jour) ou à la quinine (1 gr. p. jour), le début de l'administration de ces médicaments

étant respectivement: 24 heures avant l'infection; 3, 5 et 7 jours après l'inoculation des sporozoïts (v. T. I, II, III, IV et V). Les observations faites sur 47 paralytiques traités de cette manière et celles de 17 témoins non traités montrent:

a) Une certaine action « débilitante » de l'atébrine sur le sporozoïte du P. falciparum, que l'on n'observe pas dans les cas traités avec de la quinine;

b) Une différence d'action de ces deux substances schizontocides n'est plus sensible dans les cas où l'administration du médicament commencé le 7-e jour après l'inoculation s'exerçait sur les trophozoïtes et non pas sur les sporozoïte.

Le pouvoir infectant du sang de deux sujets (donneurs) inoculés à voie endoveineuse avec une suspension dense de sporozoïtes de *P. falciparum sans la protection d'un traitement préventif à l'atébrine (v. T. VI A.), n'est évident — sur 24 nouveaux malades récepteurs — qu'à partir du 7-e jour de l'incubation.*

Cette méthode préventive ne parait pas avoir beaucoup gêné l'évolution du sporozoïte au trophozoïte. La forme clinique présentée par les deux donneurs a été cependant très bénigne et n'a pas nécessité un second traitement. Ces recherches confirment nos données antérieures sur la non infectiosité du sang au cours des 6 premiers jours de l'incubation (phase intracellulaire du sporozoïte?) ainsi que les résultats négatifs *d'une prophylaxie causale* à l'atébrine, signalés par de nombreux auteurs. L'efficacité relative de cette substance dans la prophylaxie clinique est démontrée.

Le pouvoir infectant du sang de deux autres donneurs inoculés avec du sang virulent sans la protection d'une méthode préventive similaire à l'atébrine est par contre évident au cours de 5 jours de traitement. 28 nouveaux sujets ont aussi servi pour cette démonstration (v. T. VI. B).

Ce n'est qu'à partir de 48 heures après la fin du traitement à l'atébrine que le sang de ces sujets n'est plus infectant pour des nouveaux sujets (au moins pour la période d'observation de cette étude). L'action thérapeutique de l'atébrine est donc progressive, la destruction ou l'inactivation du parasite n'étant effective qu'après 7 jours, calculés depuis le premier jour de traitement. L'hypothèse d'une action directe du médicament sur le parasite ne paraît pas être confirmée.

Les résultats de l'action de l'atébrine en rapport avec la résistance du sporozoïte et la sensibilité du schizonte sont démontrés en les comparant avec ceux du groupe précédent.

L'insuffisance protectrice d'une dose restreinte journalière d'atébrine (0,06 gr.) est évidente dans le cas d'infections répétées (sporozoïtes *Pl. falciparum*) une fois par semaine au cours de l'application de cette méthode de prophylaxie sur 4 sujets. Une dose hebdomadaire de 0,30 gr. d'atébrine, administrée pendant six semaines aux 4 sujets infectés chaque semaine au cours des trois premières semaines, n'empêche pas l'infection parasitaire. La maladie clinique, chez 3 sur 4 sujets inoculés, a commencé deux à trois semaines après l'administration de la dernière dose d'atébrine.

Les doses décroissantes d'atébrine administrées à titre préventif aux 4 sujets inoculés (deux fois par semaine), sous la protection de ce traitement, ne réalisent pas le but poursuivi. L'accumulation dans l'organisme du médicament après les premières fortes doses d'atébrine est insuffisante pour subvenir à l'insuffisance des dernières doses, trop réduites pour protéger l'organisme contre les dernières inoculations de sporozoïtes. Trois témoins font tous la maladie clinique (v. T. VIII).

* * *

Dans l'infection à sporozoites de P. vivax., parmi les 5 méthodes préventives expérimentées à l'atébrine (v. T. IX. Gr. G.) les résultats obtenus donnent préférence à *la méthode bihébdomadaire (0,20 × 2)* à condition de continuer l'administration du médicament au cours des 3 semaines suivant la dernière inoculation de sporozoites.

THE LONGEVITY OF THE FEMALE ADULTS OF THREE RACES OF *ANOPHELES MACULIPENNIS* WHICH OCCUR IN NATURE IN NORTHERN ROUMANIA

by

P.-G. SHUTE and E. UNGUREANU

A preliminary report on the above subject was published and distributed by the League of Nations Malaria Commission as C. H./Malaria 273, Geneva, February 21st 1939.

This report concerned the researches which had been carried out during the year 1938, from June to October (inclusive), these months being the active breeding season of *Anopheles* in the area.

It was considered advisable to spread the experiments over a period of two breeding season because, although during 1938 five separate experiments were carried out, it represented only one trial for each month and it was therefore thought advisable to repeat the trials so as to have at least two each month.

In 1932 Professor Ciuca and Col. S. P. James arranged for collaboration between the various malaria stations in Roumania and the British Ministry of Health's malaria laboratory at Epsom. With this end in view Professor Ciuca sent one of his medical officers (Dr. Chelarescu-Vieru) to study at the Epsom Institute for six months. While there she studied the technique of preparing and infecting batches of *Anopheles maculipennis* for malariatherapy. We were working exclusively with the race *atroparvus* which, at that time, we were collecting as adults from animal houses in a country district. On her return to Jassy she was put in charge of the malaria laboratory in the hospital direc-

ted by Professor Ballif. She at once set to work on the same lines as those employed at Epsom. Her experience here had taught her that providing reasonable care was taken during late summer and autumn, she could expect at least 80% of the original batch of infected *Anopheles* tobe alive and active on the day following the entry of sporozoites into the salivary glands of the insects; usually about the tenth day for *P. vivax* and the twelth day for *P. falciparum.*

She soon found, however, that in the conditions in wich she was working, the percentage of survivals was considerably lower than she had expected, for often the percentage was as low as five to ten per cent and sometimes the whole batch died within a few days of collecting. The obvious questions such as temperature, humidity, etc., were considered and investigated, but no reason for the very high death rate was understood. Her material was also collected as adults from animal houses.

In 1933 one of us (P. G. S.), visited the Jassy Malaria Research Station and took from Epsom several hundred infected *A. maculipennis.* On arrival only three or four of the insects had died.

During our studies at Jassywe found that the varieties used were ot two kinds, *typicus* and *messeæ*, while, as stated previously, at Epsom only *atroparvus* were used. Here, then, appeared to be a possible explanation for the differences in the survival rates as experienced in the two laboratories. There was never, of course, any question of different technique because it was identical in the two laboratoires. A remarkable feature of the deaths of the insects from the Jassy laboratory was that large numbers died when full of blood. A batch of 100 which had been fed and sorted one evening may, on the following morning, be reduced to twenty or thirty, the dead lying on the floor of the cage gorged with blood. Had the deaths occurred when the insects were free of the previous blood meal it may have been considered that it was the result of starvation and their reluctance to partake of a blood meal when offered. One further point of interest is that the deaths occurred irrespective of whether the blood meal was human or animal. It was stated earlier in this report that hundreds of *atroparvus* were taken from Epsom to Jassy, a distance of nearly 3.000 miles, and that only three

or four of the insects died during the journey. On the other hand, attempts to transport both *messeæ* and *typicus* as adults from Jassy to Epsom invariably failed complety.

With this information the problem of longevity appeared to be worthy of further investigation, remembering that although malaria is endemic in many districts in northern Roumania, *A. maculipennis* consists almost exclusively of the two races, *messeae* and *typicus* and they are often present in incredible numbers where suitable breeding grounds occur. If, as we had reason to suspect, the varieties *messeae* and *typicus* were comparatively short lived insects, how is it that the there species of human malaria parasites continue to be such a serious cause of sickness in these regions? As we shall show later in this report, *atroparvus*, the long lived variety, is not completely absent in these regions but *it is rare only by comparaison.*

THE TECHNIQUE EMPLOYED FOR THE LONGEVITY STUDIES

The experiments were conducted at the village of Osoi (Near Jassy) situated at the foot hills of the river Prut. Here malaria is endemic, mosquitoes are numerous and three varieties of *Anopheles maculipennis* are present: *typicus*, *messeæ*, and *atroparvus*. The description of the room in the local dispensary which was used has already been described in the report mentioned on page one and need not be repeated here. All the adults used in the trials were bred in the laboratory from eggs which had been classified before they hatched.

It was considered essential that the adults should have ample opportunities of taking a blood meal at least daily, either human or animal, so as to avoid as far as possible an artificial death rate brought about by the lack of opportunities to feed on blood. Pupae were collected from the artificially prepared breeding pans and transferred to a large netted cage where the adults emerged. A known number, were fed on blood and then transferred to the selected cage so that each experiment was begun with blood filled adults. Each evening a rabbit was put into the

cage and left there until the following morning, when it was removed. Adults which were seen not to have fed on the rabbit during the night were then collected and given the opportunity of feeding on human blood, usually from our arms. Every three days the surviving adults were counted. In order to obtain as much information as possible, some mosquitoes were infected with *P. vivax* malaria on the same day as each longevity experiment was started. These infected insects were kept in a separate cage in the same room as the longevity mosquitoes. One or more infected insects were dissected each day until the glands contained sporozoites. Our longevity trials consisted, therefore, of ascertaining the percentage of insects alive on the day the glands would have become infected with sporozoites had the initial blood meal been an infective one.

DETAILS OF THE 1938 EXPERIMENTS

Experiment n° 1 (June 10th to June 25th). Osoi. — *Insects used:* Eighty specimens each of *atroparvus*, *typicus* and *messeæ*.

The percentages of each variety which were alive on the 15th day (the day the controls showed sporozoites in the glands), were:

Atroparvus	72	out of	80	=	90%
Typicus	24	»	» 80	=	30 »
Messeae	3	»	» 80	=	4 »

Minimum dry bulb reading 15 c., maximum 27 c. The percentage of saturation varied between 55 and 81.

Experiment n° 2 (June 22nd to July 3rd). Osoi. — *Insects used:* Fifty specimens each of *messeæ* and *typicus*.

The percentages of each variety which were alive on the 12th day (the day the control showed sporozoites in the glands), were:

Typicus	19	out of	50	=	38%
Messeae	11	»	» 50	=	22 »

Minimum dry bulb reading 20 c., maximum 34 c. The percentage of saturation varied between 60 and 80.

Experiment n° 3 (July 19th to July 30 th). Osoi. — *Insects used :* Fifty specimens each of *atroparvus*, *typicus* and *messeæ*.

The percentages of each variety which were alive on the 12th day (the day the controls showed sporozoites in the glands), were:

Atroparvus	45	out	of	50	= 90%
Typicus	34	»	»	50	= 68 »
Messeae	22	»	»	50	= 44 »

Minimum dry bulb reading 22 c., maximum 30 c. The percentage of saturation varied between 63 and 82.

Experiment n° 4 (August 12th to August 24th). Osoi. — *Insects used :* Fifty specimens each of *atroparvus*, *typicus* and *messeæ*.

The percentages of each variety which were alive on the 13th day (the day controls showed sporozoites in the glands), were:

Atroparvus	50	out	of	50	= 100%
Typicus	42	»	»	50	= 84 »
Messeae	32	»	»	50	= 64 »

Minimum dry bulb reading 22 c., maximum 30 c. The percentage of saturation varied between 64 and 94.

Experiment n° 5 (August 27th to September 9th). Osoi. — *Insects used :* Fifty specimens each of *atroparvus*, *typicus* and *messeæ*.

The percentages of each variety which were alive on the 14th day (the day the controls showed sporozoites in the glands), were:

Atroparvus	44	out	of	50	= 88%
Typicus	26	»	»	50	= 52 »
Messeae	3	»	»	50	= 6 »

Minimum dry bulb reading 18 c., maximum 29 c. The percentage of saturation varied between 63 and 82.

Two experiments of a similar character were carried out at the Epsom laboratory in England.

In experiment n° 1 the insects were kept in the hot laboratory at a constant temperature of 24 c., and in experiment n° 2 they were kept in an out-house in the hospital grounds under more

or less normal conditions and where normal atmospheric conditions prevailed.

It will be seen that in this series of experiments the variety *labranchiæ* was included. Eggs of this variety were sent to us by Dr. Marsden Bates from Albania. The results indicate that this variety is long lived but the number of trials were too few to draw any definite conclusions.

Experiment n° 1 (July 17th to August 3rd). Epsom. — *Insects used:* Twenty specimens each of *atroparvus*, *labranchiæ*, *typicus* and *messeæ*.

The percentages of each variety which were alive on the 11th day (the day the controls showed sporozoites in the glands), were:

Atroparvus	19	out of	20	= 95%
Labranchiae	14	»	» 20	= 70 »
Typicus	14	»	» 20	= 70 »
Messeae	10	»	» 20	= 50 »

Constant temperature at 24 c. The percentage of saturation varied between 70 and 90.

Experiment n° 2 (July 17th to August 3rd). Epsom. — *Insects used:* Twenty specimens each of *atroparvus*, *labranchiæ*, *typicus* and *messeæ*.

The percentages of each variety which were alive on the 21st day (the day the controls showed sporozoites in the glands), were:

Atroparvus	12	out of	20	= 60%
Labranchiae	16	»	» 20	= 80 »
Typicus	9	»	» 20	= 45 »
Messeae	6	»	» 20	= 30 »

Minimum dry bulb reading 16 c., maximum 26 c. The percentage of saturation varied betwen 60 and 80.

In all, seven longevity experiments were carried out, five in Roumania and two in England. The average number of each of the varieties which survived long enough for the malaria parasites *(P. vivax)* to complete its development was as follows:

Atroparvus	57%
Labranchiae	75 »
Typicus	55 »
Messeae	32 »

DETAILS OF THE 1939 EXPERIMENTS

Experiment n° 9 (June 14th to June 27th 1939). Osoi. — *Insects used :* Ten specimens each of *atroparvus* and *typicus* and sixteen of *messeæ.*

The percentages of each variety which were alive on the 13th day (the day the controls showed sporozoites in the glands), were:

Atroparvus .	10	out of	10	=	100%
Typicus ...	9	»	» 10	=	90 »
Messeae	11	»	» 16	=	60 »

Minimum dry bulb reading 24 c., maximum 28 c. The percentage of saturation varied between 70 and 80.

Experiment n° 10 (June 25th to July 7th). Osoi. — *Insects used :* Twenty specimens each of *atroparvus*, *typicus* and *messeæ.*

The percentages of each variety which were alive on the 15th day (the day the controls showed sporozoites in the glands), were:

Atroparvus ..	16	out of	20	=	80%
Typicus	13	»	» 20	=	65 »
Messeae	10	»	» 20	=	50 »

Minimum dry bulb reading 23 c., maximum 30 c. The percentage of saturation varied between 85 and 90.

Experiment n° 11 (August 23rd to September 4th). Osoi. — *Insects used :* Twenty-two specimens each of *atroparvus*, *typicus* and *messeæ.*

The percentages of each variety which were alive on the day the sporozoites appeared in the glands were:

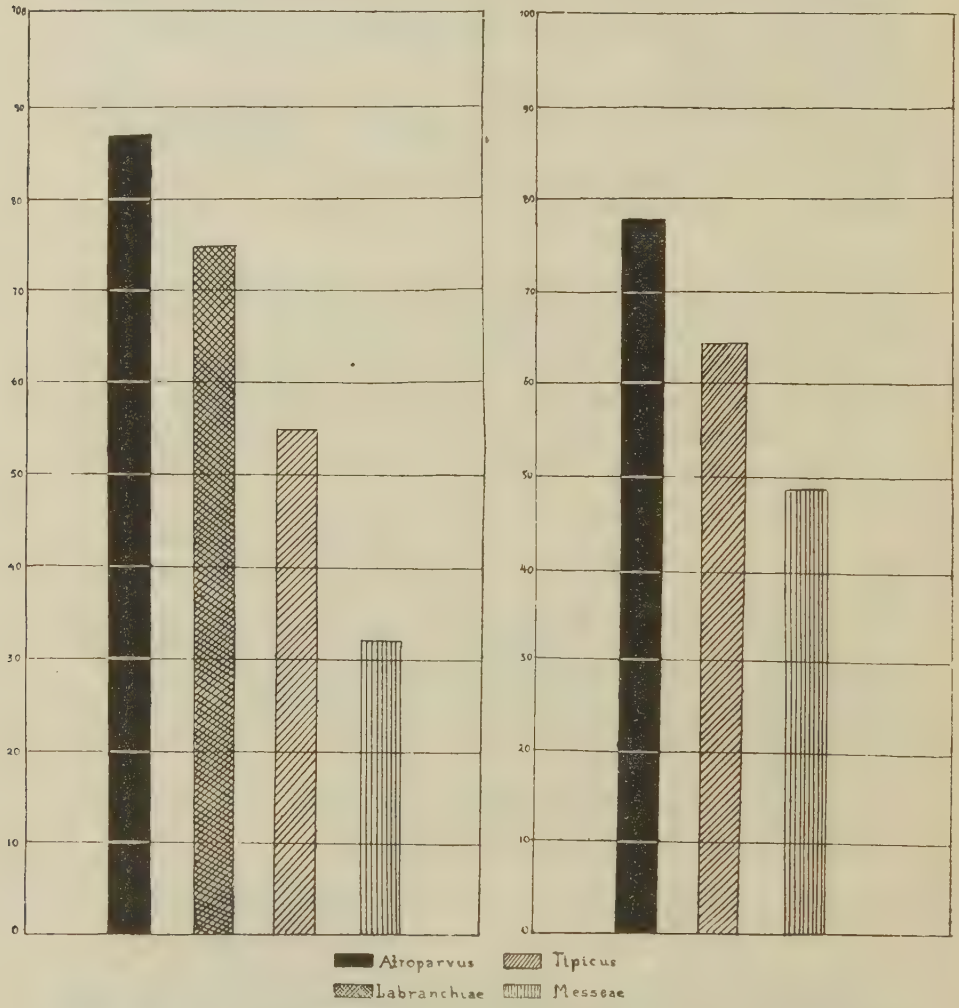
Atroparvus	13	out of	22	=	59%
Typicus	9	»	» 22	=	41 »
Messeae	9	»	» 22	=	38 »

Minimum dry bulb reading 20 c., maximum 29 c. The percentage of saturation varied between 52 and 82.

* * *

The natural source of nourishment of *Anopheles maculipennis* is blood, and we investigated the longevity of these insects when they were fed on fruit prices, commercial sugar etc. There was

evidence that life was prolonged in some cases. Frequently, however, the insects died in a few days and it was found that



1938. — Expermente ou longevity the percentage average.

1939. — Expermente ou longevity the percentage average.

the stomachs and glands were heavily infested with a fungus and we therefore assumed that this was the cause of death. But if the mosquitoes are fed on sterile fruit juices they survive for long periods; the three varieties develop fat bodies even in June or July.

DEDUCTIONS FROM THESE LONGEVITY EXPERIMENTS

Most authorities agree that the female adults of the three varieties *atroparvus*, *typicus* and *messeæ* are, strictly speaking, zoophillic in their feeding habits. A study of the literature seems to us, however, to indicate that if one of these varieties, *atroparvus*, were to disappear malaria would cease to exist in some regions. In parts of Spain, Portugal and Holland for example. The eminent Dutch Authority, Swellengrebel, is convinced that although *messeæ* is common in Holland, this variety causes no malaria in his country. To generalise *atroparvus* is a coastal mosquito and seems to be more abundant where semi-stagnant brackish water is available.

Of the varieties of *A. maculipennis* which have so far been described, two of them, *elutus* and *labranchiæ*, attack man and animals impartially, but when we come to the other varieties, which include *atroparvus*, *typicus* and *messeæ*, these are usually grouped together as being zoophilic. We believe that no one has studied the problem of the *degree* of zoophilism of these three races, with the possible exception of Swellengrebel, who has shown that in the case of *atroparvus* the female adults of this variety are quite content to live in close association with man *providing the house in which man lives fulfils the bionomic requirements of the insect.*

It is our experience that *atroparvus* is quite content to pass most of its adult life in human dwellings providing the house is dark, ill-ventilated, and that an adequate food supply is available. This seems to us to be of considerable importance. It is here that *atroparvus* differs from both *typicus* and *messeæ*. We do not suggest that *atroparvus selects* human dwellings any more than do either *typicus* or *messeæ* but we believe that once *atroparvus* finds itself inside a human habitation it is content to stay there until such time as it is necessar to leave for oviposition. We believe that *typicus* and *messeæ*, although plentiful in houses throughout the breeding season, are *not* content to remain there for so many days as is the *atroparvus*. Both *typicus* and *messeæ* much prefer to live in animal

houses and their sejourn in human dwellings is short preferentially.

In England, only two races of *A. maculipennis* have so far been recorded, *atroparvus* and *messeæ*. It is interesting that while these two varieties have been reported from both coastal and inland districts, on the coast, especially in the south-east, *atroparvus* constitutes over 90%, of the population, while inland, *messeæ* predominates. Since the World War n° 1 over 500 cases of malaria *(P. vivax)* have been notified among persons who have never been out of England. The local *Anopheles* did, of course, become infected from soldiers who relapsed following their return from foreign service. About 80% of the cases of true indigenous origin occured in and around our coast and especially the south and south-east. Furthermore, two small counties (Kent and Essex), were responsible for 88% of the cases from 1917 to 1939, and it is in these counties that *atroparvus* is abundant and their numbers exceed those of any other part of Engand which have so far examined. In this area the disease continued to spread beyond the sporadic cases, and active measures had to be taken to control and prevent the disease from becoming endemic. When, however, a case occurs inland it usually ends with one, or at the most, two cases. This, we believe, is of considerable epidemiological interest when the races of *A. maculipennis* and their bionomics are under consideration. Much of the land on our south-east coast is at, or below, sea level, and brackish ditches are numerous. *Atroparvus* is abundant and man is frequently bitten by them, although for every one found in a bedroom, hundreds are present in a nearby stable or pig-sty.

Each year in an inland area one, or perhaps two cases are reported. *Anopheles* are often difficult to find in the houses, but are always plentiful in nearby stables. Of the collection, about 1% are *atroparvus* and the remainder are *messeæ*. No anti-malarial measures have ever been undertaken except to treat the infected patient with quinine, and the disease has never spread beyond the one or two original cases which were undoubtedly infected by an individual mosquito. It is therefore our opinion from a study of indigenous malaria in England that if cases of malaria were left untreated in coastal regions where *atroparvus*

are very numerous, malaria would become endemic and assume some importance as a cause of sickness among the inhabitants, whereas in inland districts where *atroparvus* is rare and *messeæ* very common, an occasional case of malaria may occur but the disease will never become endemic. Whether any of the inland cases arise through infection by the variety *messeæ* it is impossible to say, but we attach some importance to the fact that if a careful search be made, a few *atroparvus* can always be found. On the other hand, indigenous malaria is unknown in some coastal districts oven where *atroparvus* is the only variety found, but in such places the *Anopheles* are not numerous. We deduce from these observations that a series of cases of indigenous origin are ever likely to occur, and only in such districts where the variety *atroparvus* not only predominates but also where it is extremely numerous.

Conclusions. — In England, during the months of June to September malaria may be troublesome in districts where *atroparvus* is very numerous and such places do exist in a few coastal regions, particularly in south-eastern districts. Isolated cases may also occur inland where *messeæ* predominate. In these areas there is no danger of the disease spreading.

* * *

In parts of Roumania, and especially at Osoi and the surrounding villages, malaria is endemic and *Anopheles* are abundant. Unlike England, between the months of June to September the temperature is continuously higt enough for the parasite to complete its cycle in the insect host in a reasonably short time, averaging about 14 days. The number of gametocyte carriers are numerous at Osoi, as in other villages, but rare in England.

Our results show clearly that *atroparvus* is a longer lived insect than either *typicus* or *messeæ*. Although *atroparvus* is less numerous than the other two varieties we cannot accept this as evidence that is less important than the other two as a malaria vector. On the contrary, we are inclined to the belief that in all probability it is even more important and for the following reason. The very high percentage of insects which survive for at least a month means that infested insects live enough to transmit

malaria to a number of people. If the exogenic cycle is completed in 14 days there remains at least 16 days of active life for the insect, and if, as seems to be the case, they feed every 48 hours, then at least eight people may become infected from a single mosquito. Also, we believe that although *atroparvus* is classified as being zoophilic in its habits, it bites man more readily that do either *typicus* or *messeæ* and it is content to live in human dwellings much more readily than are the other two varieties. We know, however, that both *typicus* and *messeæ* are occasionally found infected in nature, but what we do not know is whether these varieties would be able to maintain the same endemic malaria if the variety *atroparvus* was absent. It may well be the case that malaria is maintained chiefly by the variety *atroparvus* but that because both *typicus* and *messeæ* are both so very numerous and because such a large number of gametocyte carriers are available, of the few which do bite human beings, some become infected and those which live long enough may transmit the disease and so help to augment the number of cases. We may compare this with some tropical regions where malaria is endemic and where one, or perhaps two, good insect vectors occur but where also there are present large numbers of *Anopheles* which are poor carriers. Should there be an epidemic of malaria, then the percentage of gametocyte carriers would be greatly increased and some of the Anopheles which are poor carriers or only bite man occasionally, may at such times become infected and play a minor role in transmission.

Our longevity experiments show that *typicus* lives longer than *messeaæ*.

Whether *typicus* and *messeæ*, having become infected, will live long enough to transmit the disease, depends largely on the age of the insect *at the time it takes an infective blood meal.* Our experiments show only that the survival rate is greatest in the case of *atroparvus* but it should be pointed out that these trials concerned only newly emerged insects. We have evidence that *antroparvus* continues to live for many weeks, while the other two varieties do not. In nature, therefore, the variety *atroparvus* could become infected and live long enough to transmit

the disease even when it was some weeks old, whereas, the other two varieties would transmit the disease only if they became infected within the first few days of their adult lives. This is clearly seen when *messeæ* and *typicus* are collected as adults from stables and brought into the laboratory and infected. Within a few days most of them are dead whereas with *atroparvus* collected in nature 50% to 60% will survive for weeks, with the exception of those which are collected during April and May. But these belong to the previous years brood and are therefore *at least* eight to nine months old and need not be considered. Also, *typicus* feeds on humans more readily then does *messeæ*. But it is our experience that both these varieties prefer not only to feed on domestic animals but also that they are content to live in mans dwellings to the same extent as *atroparvus*. There is some evidence which suggests that *typicus* does play a fairly important part in malaria transmission, perhaps because of the very great numbers which are present, but we belive that *messeæ*, however numerous they may be, seldom transmit the disease, partly because they are short lived and partly because of their reluctance to bite man.

CONCLUSIONS

Female *atroparvus* in northern Roumania are long lived insects throughout the breeding season. They feed equally well on man and animals and are content to live for long periods in mans dwellings providing there are plenty of hiding places such as cupboards, dark corners and especially under the beds where bed coverings nearly reach the floor. They are excellent carriers of both *P. vivax* and *P. falciparum*. They are less numerous than eiher *typicus* or *messeæ* but probably play a more important role in the spread of mallaria than the other two varieties combined.

* * *

Typicus is reasonably long lived but varies according to the season of the year, reaching the highest peak in August. It feeds

less readily on manthandoes *atroparvus* and there is often a high death rate following the first meal of blood. A blood meal in this variety takes longer to digest than is the case with *atroparvus*.

* * *

Messeæ: This variety does not live long, especially during early summer. These insects are reluctant to bite man and the greatest difficulty is experienced in inducing them to feed on man in the laboratory. It is believed that they play little or no part in the transmission of malaria. We believe that it is even more reluctant than *typicus* to bite man. Newly hatched adults will reluctantly take a human blood meal after about 48 hours of hatching, but to induce them to take a second and third human blood meal is extremely difficult. It is even more difficult to get a small percentage of adults caught in nature to feed on man. It is also our experience that, unlike *atroparvus*, thay do not feed readily on rabbits, seeming to prefer the blood of cattle, pigs and horses.

* * *

From these results it is considered that malaria in these regions continues to be an important disease because the numbers of mosquitoes are very numerous, and that *atroparvus* is not really scarce but only so by comparison. That *atroparvus* is the most important vector and that next in importance is *typicus* while *messeæ* is of no importance at all [1]).

The survival of the human malaria parasite depends on those species of mosquitoes which live at the expense of human beings. At first sight it would appear as though *messeæ* and *typicus* were alone responsible for the endemic malaria of northern Roumania. But a careful search has shown that, tucked away almost in obscurity, is the variety *atroparvus*. The long-lived *atroparvus* is quite content to dwell for long periods in suitable human habitations but during the summer months it must depart every four or five days for the purpose of egg laying.

(1) We agree that *typicus* and *messeae*, may transmit malaria by the force of numbers and by the special circumstances.

In early autumn, however, ovary development ceases but this hardy insect continues to feed, while the other races, *typicus* and *messeæ*, do not, but leave the animal houses and seek colder dwellings which they enter and hibernate.

It has been shown that in many parts of Europe there is a sharp rise in the number of new cases of *P. vivax* malaria in the early spring, many weeks before the new seasons adults have begun to make their appearance. It is our opinion that these latent cases are the result of infections during the previous autumn and our studies of therapeutically induced *P. vivax* malaria have led us to believe that latent *P. vivax* malaria is the result of *light infections* (small numbers of sporozoites). If these deductions are correct we think that perhaps most of the cases (latent *P. vivax* malaria) are caused by these lingering *atroparvus* which stay on in human habitations in autumn long after the other varieties have disappeared.

The destruction of mosquitoes in the houses in late summer may possibly reduce the number of latent cases of *P. vivax* because the attack would be directed almost exclusively against (at last at this season of the year) the man biting *atroparvus*. If these annual outbreaks of latent malaria could be prevented, the new seasons adults would, to some extent, be deprived of infective blood meals and so the number of cases or *P. vivax* during the following summer may be much reduced.

SPECIES SANITATION

While we know that in coastal districts *atroparvus* usually exceeds both *typicus* and *messeæ*, and that inland the reverse is usually the case, we have as yet little knowledge of any selectivity of the breeding habits of *atroparvus* in inland waters [1]). It is probable that inland, where all three species occur, the larvae use the same breeding grounds. This seems to be the case

(1) In this region *atroparvus* has been found breeding in various kinds of water including fresh water, brackish and fresh marshland waters and semi-stagnant water from river-beds. But marshes and semi-stagnant water seem to form the chief breeding grounds.

around Osoi where the chief breeding ground is the stream « Tatarca ». If it could be shown that this is not so and that *atroparvus* have different breeding habits, then some selective anti-larval operations may be worthy of consideration.

While species sanitation may not be possible against the larval stages one or more of the three varieties, if it could be shown that in autumn *atroparvus* is alone responsible for the sharp spring rise of *P. vivax* and this variety remains in the houses for some weeks after *typicus* and *messeæ* have gone into true hibernation, then the destruction of *atroparvus* in human dwellings during the months of September and October may be worth while.

CONCLUSIONS

Les femelles d'*atroparvus* du Nord de la Roumanie sont des insectes dont la vie dure pendant toute la saison des pontes. Elles se nourrissent aussi bien sur l'homme que sur les animaux, et préfèrent rester pendant de longues périodes dans des habitations humaines où se trouvent des places abritées: armoires, coins sombres et tout particulièrement les lits dont les couvertures arrivent presqu'au plancher. Elles sont d'excellents vecturs de *P. vivax*, ainsi que de *P. falciparum*. Moins nombreuses que les femelles de *typicus* et *messeæ*, elles jouent probablement un rôle plus important dans l'extension du paludisme que les deux autres variétés ensemble.

* * *

A. typicus vit assez longtemps, varie avec la saison de l'année, le point culminant est au mois d'août et se nourrit moins volontairement sur l'homme que l'*atroparvus*; après le premier repas de sang, il s'ensuit très souvent un haut pourcentage de morts. Un repas sanguin est digéré plus longtemps par cette variété que dans le cas de l'*atroparvus*.

* * *

A. messeæ: Cette variété ne vit pas longtemps, surtout au commencement du printemps, il lui répugne en général à piquer l'homme et on a de grandes difficultés à les faire nourrir au laboratoire sur l'homme. Son rôle dans la transmission du paludisme est discutable. Nous croyons qu'il est plus réfractaire encore que le *typicus* à piquer l'homme. Les adultes nouvellement éclos prendront, 48 heures après l'éclosion, avec répugnance un repas de sang humain, mais il est extrêmement difficile de leur faire prendre un second et un troisième repas. Il est encore plus difficile d'obtenir un petit pourcentage d'adultes capturés dans la nature ou nourris sur l'homme. D'après notre expérience, il résulte que contrairement à l'*atroparvus*, il ne se nourrit pas volontairement sur des lapins, paraissant préférer le sang du bétail, des cochons et des chevaux.

* * *

Il résulte des nos observations que dans ces régions le paludisme continue à être une maladie importante, vu que le nombre des moustiques est si grand, et que l'*atroparvus* n'est réellement rare que par comparaison avec les autres variétés. Il résulte également que l'*atroparvus* est le vecteur le plus important et le second en importance est le *typicus*, tandis que *messeæ* n'a absolument aucune importance [1]).

La survivance du parasite paludéen humain dépend des espèces de moustiques qui vivent au dépens des êtres humains. A première vue, il apparaît que le *messeæ* et le *typicus* seraient seuls responsables du paludisme endémique du nord de la Roumanie. Mais une recherche plus approfondie a montré que c'était toujours l'*atroparvus* qui se trouvait caché dans l'obscurité. L'*atroparvus* qui vit longtemps préfère habiter pendant de longues périodes dans des habitations humaines convenables; pendant les mois d'été, il quitte l'habitations tous les quatre ou cinq ou cinq jours pour déposer ses œufs. Au commencement de l'automme, toutefois, le développement de l'ovaire cesse; cet insecte hardi continue cependant à se nourrir, tandis que les autres variétés,

(1) Nous sommes d'accord que *typicus* et *messeae* peuvent transmettre le paludisme par la force du nombre et dans des circonstances spéciales.

typicus et *messeæ*, ne se nourrissent plus; elles quittent les étables, cherchant d'autres abris plus froids où elles entrent en hibernation.

Il a été montré que, dans plusieurs régions de l'Europe, il existe une grande augmentation du nombre des cas nouveaux de paludisme à *P. vivax* au commencement du printemps, plusieurs semaines avant que les nouvelles générations d'adultes commencent à paraître. Nous croyons que ces cas latent sont les résultats des infections contractées pendant l'automne précédent; nos études sur le paludisme à *P. vivax* intentionnellement provoqué nous ont conduits à la conclusion que les cas latents de paludisme à *P. vivax* sont le résultat des *infections de faible intensité* (petit nombre de sporozoïtes). Si ces déductions sont correctes, nous pensons que peut-être la plupart des cas (paludisme latent à *P. vivax*) sont provoqués par ces *atroparvus* retardataires qui restent dans les habitations humaines pendant l'automme longtemps après la disparition des autres variétés.

La destruction des moustiques dans les maisons jusqu'à la fin de l'été peut réduire le nombre des cas latents à *P. vivax*, parce que l'attaque sera portée presqu'exclusivement sur l'*atroparvus* qui pique l'homme (au moins dans cette saison de l'année). Si ces épidémies annuelles de paludisme pouvaient être empêchées, les nouveaux adultes seraient dans une mesure quelconque privés des repas de sang infectant; de cette manière, le nombre des cas de *P. vivax* pendant l'été suivant pourrait être de beaucoup réduit.

LUTTE CONTRE L'ESPÈCE VECTRICE « SPECIES SANITATION »

Nous savons que tandis que dans les districts côtiers l'*atroparvus* dépasse en nombre les *typicus* et les *messeæ*, dans l'intérieur du pays le revers est de règle. Nous avons d'autre part très peu d'informations sur les gîtes d'*atroparvus* dans les eaux de l'intérieur [1]). Il est très probable qu'à l'intérieur, où l'on trouve

[1]) L'*atroparvus* se développe dans cette région dans toutes sortes d'eaux: eaux fraîches, des rivières semi-stagnantes, des marais et les eaux stagnantes sont des endroits préférables pour leur élevage.

toutes les trois espèces, les larves utilisent les mêmes moyens du milieu. Il paraît que c'est le cas autour d'Osoi, où les gîtes importants se trouvent dans la rivière de Tatarca. S'il pouvait être démontré le contraire et que l'*atroparvus* a des gîtes différents, alors il serait intéressant de faire une sélection des opérations anti-larvaires.

Tandis que la lutte contre les espèces responsables ne pourrait être possible pour les stades larvaires des trois variétés, s'il était possible de montrer qu'en automne l'*atroparvus* seul est responsable pour la grande augmentation du *P. vivax*, et que cette variété reste des semaines dans le maisons après que le *typicus* et le *messeæ* soient tombés dans la vraie hibernation, alors la destruction de l'*atroparvus* dans les habitations humaines pendant les mois de septembre et d'octobre mériterait d'être prise en considération.

ÉTUDE BIOCHIMIQUE ET SÉROLOGIQUE DE 51 SOUCHES DE STREPTOCOQUES [1])

par

Sylvia IROFTI

(Institut « Dr. I. Cantacuzino » Bucarest)

Au cours des dernières années des nombreuses études ont été publiées sur les propriétés biochimiques et sérologiques des streptocoques hémolytiques. Certaines de ces propriétés ont été utilisées pour la différenciation des streptocoques d'origine humaine de ceux d'origine animale.

R. Edwards (3), après avoir étudié 96 souches de streptocoques d'origine animale et 36 souches d'origine humaine, observe que celles d'origine humaine produisent la fermentation de la tréhalose, et celles d'origine animale, du sorbitol. Ces résultats ont été confirmés plus tard par H. Plummer (17).

Tillet et Garner (10) montrent que les streptocoques d'origine humaine produisent la lyse du coagulum de fibrine humaine, ceux d'origine animale n'ont aucune action sur la fibrine. Dans une série de recherches ultérieures, ils trouvent des relations entre la fibrinolyse et la virulence du streptocoque. Toutes les souches virulentes produisent la lyse du coagulum de fibrine humaine, celles non virulentes ne la produisent pas.

Ayers et Rupp (1), Reiss et Swenson (8) séparent les streptocoques d'origine humaine de ceux d'origine animale selon la propriété d'hydrolylser l'hyppurate de natrium. Après la classification sérologique du streptocoque hémolytique par Griffith (4),

[1]) Reçu août 1939.

TABLEAU I

Streptocoque	Origine des souches		Hémolyse	Fermentation des sucres (1 %)						Développement sur gélose sang+bile		Digestion fibrine humaine	Hydrolyse hippurate Na	Type sérologique	Virulence pour la souris	Toxicité pour l'homme
				Sorbitol	Lactose	Mannite	Salycine	Célobiose	Tréhalose	10%	40%	1 h., 2 h., 24 h				
353	Médiastinite.	Pus.	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—	6	Non pathog	60.000
														26		
315	Phlegmon.	»	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	N	»	5.000
321	»	»	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—	27	»	5.000
326	»	»	+	—	+	+	+	+	—	—	—	+	—	12	»	20.000
341	»	»	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	12	1/100	5.000
342	»	»	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	N	Non pathog	1.000
362	»	»	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	—	N	»	5.000
363	»	»	—	—	+	—	+	+	+	—	—	+	—	23	1/100	60.000
														17		
337	Abcès.	Erysipèle	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	N	Non pathog	5.000
338	»	»	+	—	+	—	+	—	+	—	—	+	—	12	»	1.000
327	Phlegmon.	Pus.	+	+	+	—	+	+	+	—	—	+	—	12	»	40.000
337 B	Abcès.	Erysipèle	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—	N	»	5.000
357	Méningite.	L. c.-r.	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—	N	1/100	20.000
408	»	»	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—	12	Non pathog	10.000
409	»	»	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	N	»	10.000
405	»	Hém.	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	14	1/100	5.000
336	Lymphangite.	Pus.	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+	—	12	1/100	40.000
316	Inf. puerp.	Hém.	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	N	Non pathog	40.000
314	»	Périt. pus.	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+	+	12	»	20.000
317 A	»	»	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	10	»	10.000
317 B	»	Abcès	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	—	4	»	10.000

319	»	Hém.	+	—	+	-	+	+	+				+		N	»	5.000
320 A	»	»	+	+	+	+	-	—		—	—			-	10	»	20.000
320 B	»	Gorge.	—	+	+	+	—	—		—	—		+	-	N	»	20.000
324	»	Hém.	+	+		—	+			-	-		.	-	3	»	10.000
331	»	Pus.	+	+	+	+	—	+	+				+	-	N	»	5.000
332	»	»	+	+	+	+	+	+	+	-			+		28	»	40.000
335	»	»	+	+	+	+	+	+		--			+		23	»	10.000
351	»	»		-	+ +	+	+	-			—		+		N	»	5.000
355	»	Hém.	+	—	—		+	-		—	—		+	—	9 12	»	40.000
356	»	»	+	—	-	—	—	+	+	—	—		+		N	1/100	20.000
358	»	Pus.	+	—	+	+	+	+	+	—	—			+	12 13	1/200	40.000
370	»	Hém.	+	+	. .	+	+	+	—	—	-		+	—	17	Non pathog	40.000
400	»	Périt. pus.	+	+		+	+	. .	—	—			+	-	N	1/100	20.000
401	»	Pus.	+	. .	+	—	+	+	+		.		+		12	Non pathog	5.000
402	»	Hém.	+	+	+	+	+	+	+	+			+	-	4	»	20.000
406	»	»	+		+		-						+		N	1/100	40.000
407	»	Pus.	+	+	+	+	-		-	—			+	-	N	Non pathog	10.000
404	»	Hém.	-	+	+	+	-	—		-			+		N	»	60.000
312	Septicémie.	»	+	+	+	+	+	+			-		+		N	»	10.000
339	»	Pus.		+	+	+	+	+	-	-	—		+		17	»	20.000
365	»	Hém.	+	+	+	+	—	—	+	—			+	-	N	»	30.000
403	»	»	—	+		+	—	—	+				+		N	»	5.000
410	»	»	+	+	+	+	+	+			- -		+		N	1/500	10.000
318	Péritonite.	Pus.	+	+	+	+	+			+			+	—	12	Non pathog	20.000
340	Pelvipérit.	»	+	-	+	+	+	+	+		—		+	-	12 9	1/100	60.000
350	»	»	+	+	+		-	+		+			+	+	10	1/100	5.000
352	»	»	+	—	+	.	+	—	-	—			—	—	N	Non pathog	5.000
364	»	»	+	+	—	+		+	—	—			+		17 23	1/100	60.000
311	Pleurésie.	»	+	+	+	+	+	+	+	—			+	-	N	Non pathog	30.000
360	»	»	+	- -	—	+	+	—			.		+	-	13	»	40.000

des nombreuses études ont été faites pour établir les relations possibles entre les types sérologiques et les diverses affections streptococciques.

Nous présentons ci-dessous les résultats d'une étude comparative sur les propriétés biochimiques et sérologiques de 51 souches de streptocoques isolés de diverses affections streptococciques.

MÉTHODES DE TRAVAIL

Les souches ont été isolées de 22 cas d'infection puerpérale, 5 septicémies streptococciques, 5 péritonites, 2 pleurésies purulentes, 4 méningites cérébro-spinales, 4 médiastinites, 11 phlegmons.

Hémolysine soluble. — Pour l'étude de l'hémolysine soluble, on ajoute, à 0,5 cc. d'une suspension de globules rouges de lapin, 5% en sérum physiologique, 0,5 cc. du liquide surnatant d'une culture âgée de 24 heures en bouillon glucosé, centrifugée. L'hémolyse est observée après une incubation de deux heures au thermostat.

Pour étudier, le développement sur gélose-sang avec de la bile, nous avons fait des ensemencements sur plaques de gélose-sang, auxquelles on a ajouté 10% et 40% de bile de bœuf. Les plaques sont examinées après 24 et 48 heures d'incubation.

La fermentation des sucres a été étudiée sur le milieu de Barsikow, contenant 1% de sucre. Nous avons noté les résultats après une incubation de 24, 48 heures et 7 jours.

L'hydrolise de l'hipurate de natrium a été étudiée selon la méthode d'Ayers et Rupp (1), et la fibrinolyse selon la méthode de Tillet et Garner (10).

Les types sérologiques ont été déterminés selon la méthode de Griffith (4) (« slide agglutination »).

Virulence. Pour déterminer la virulence sur l'animal, nous avons injecté, par voie péritonéale, des souris de 20 grammes avec différentes dilutions d'une culture de streptocoque,

âgée de 24 heures, en bouillon-sang de lapin. Les souris ont été observées pendant 7 jours. Nous avons considéré comme virulentes les souches qui tuent la souris en dilution d'au moins 1/100.

Toxicité. Pour titrer la toxicité sur l'homme, exprimée en S. T. D (Skin test doses), nous avons injecté par voie intradermique, à des individus sains, qui présentaient une réaction Dick positive, 0,1 cc. de toxine en dilutions progressives.

La réaction a été considérée positive si on obtient après 24 heures une zone congestive légèrement infiltrée, ayant un diamètre de 10 mlilimètres.

Résultats. — De 51 souches isolées, 6 ont été non hémolytiques (voir tableau I).

La plupart des souches attaquent la lactose (84%); 31 souches, le sorbitol (62%); 32 souches, la mannite (64%); 38 souches, la salicine (76%); 19 souches, la tréhalose (38%), et 19 souches, la célobiose (38%).

Quatre souches seulement produisent l'hydrolyse de l'hippurate de natrium, caractère qui plaiderait pour le fait que toutes nos souches sont d'origine humaine. Nous n'avons observé aucune relation entre la fermentation des sucres, l'hydrolyse de l'hippurate de natrium et la digestion de la fibrine humaine.

Des nombreuses souches, qui se comportent du point de vue des fermentations comme celles d'origine animale, ne produisent pas l'hydrolyse de l'hippurate de natrium et ne digèrent pas la fibrine humaine (voir tableau I).

Tous ces résultats nous permettent d'affirmer que ces tests ne suffisent pas pour la classification des streptocoques du point de vue de leur origine.

Tillett et Garner (10) trouvent, dans une série de recherches, des relations étroites entre la virulence du streptocoque et la propriété de digérer le coagulum de fibrine humaine. Dans nos recherches, nous n'avons pas observé des différences appréciables: de 12 souches pathogènes pour la souris, 10 produisent la lyse de la

TABLEAU II

Affection	Nombre des cas	Type sérologique																												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	M	N
Infections puerpérales	22	—	—	1	2	—	—	—	—	—	2	—	2	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1	2	10
Septicémies ...	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
Péritonites	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1
Pleurésies	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Méningites	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Médiastinite ..	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Phlegmons	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	5
Lymphangites .	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	51			1	2						3		9	1	1			2						1				1	1	6	22

M — souches agglutinées par plusieurs sérums. N = souches non classifiées.

fibrine; de 39 souches non pathogènes, 32 sont fibrinolytiques (voir tableau I).

Du point de vue sérologique, les types trouvés ont été 12, 10, 4, 17, 3, 4, 23, 27 et 28 (voir tableau II).

Le type rencontré le plus souvent a été le type 12; celui-ci représente 18% de la totalité des cas.

Nous avons observé des nombreux types agglutinés par plusieurs sérums (type M), 12% de la totalité des cas.

Un grand nombre de souches isolées n'ont pu être classifiées selon la méthode de Griffih; de 51 souches étudiées, 22 sont restées non classifiées (43%).

Le type 12, comme les autres types trouvés plus rarement, sont distribués proportionnellement dans les diverses affections; on n'observe pas la prédominance marquée d'un type dans une certaine affection.

En ce qui concerne la pathogénéité du streptocoque pour la souris, de 51 souches, nous avons trouvé 12 souches pathogènes pour la souris en dilutions de 1/100-1/500 (voir tableau I). Nous n'avons pas eu l'impression que le type le plus fréquemment rencontré serait plus virulent pour la souris; ainsi, de 9 souches de type 12, seulement une a été pathogène pour la souris.

Les souches M nous ont paru plus virulentes; de 6 de ces souches, 4 ont été virulentes pour la souris en dilution de 1/100-1/200.

Du point de vue de la toxicité pour l'homme, les souches les plus toxiques ont été celles de type M, toutes titrant de 40.000 à 60.000 S. T. D.; la proportion des souches toxiques est moindre parmi les streptocoques agglutinés par un seul sérum, ou ceux non classifiés.

On n'observe pas des relations entre la toxicité pour l'homme et la pathogénéité pour la souris.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié 51 souches de streptocoques isolées de diverses affections streptococciques:

1° De nos observations, il résulte que les tests de fermentation de la célobiose et de la tréhalose, de l'hydrolyse de l'hippurate

de natrium et de la lyse de la fibrine humaine ne paraissent pas suffisants pour la différenciation des streptocoques d'origine humaine de ceux d'origine animale.

2° La propriété de digérer le coagulum de fibrine humaine ne paraît pas être en rapport avec la virulence du streptocoque.

3° Les types sérologiques isolés ont été: 12, 10, 4, 17, 3, 13, 14, 23, 27 et 28. Dans 12% des cas, nous avons trouvé des streptocoques agglutinés par plusieurs sérums (type M).

43% n'ont pu être classifiés selon la méthode de Griffith.

4° Nous n'avons pas observé des relations étroites entre la pathogénéité pour l'animal et le type sérologique. Les souches les plus virulentes pour la souris ont été celles de type M.

5° Les streptocoques les plus toxiques pour l'homme ont été ceux de type M.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ayers (S.) and Rupp (Ph.): « Differenciation of hemolytic streptococci from human and bovine sources by the hydrolysis of sodium hippurate. » (*J. of Infectious Diseases*, 1928, 30, p. 388.)
2. Dack (G.-M.), Woolperta (C.) et Hoyne (A.): « Fibrinolytic activity of hemolytic Streptococci from Scarlet fever. » (*Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1935, 132, p. 1431.)
3. Edwards (R.): « The biochemical characters of human and animal strains of hemolytic streptococci. » (*J. Bact.*, 1932, 23, p. 259.)
4. Griffith (F.): « The serological classification of streptococcus pyogenes. » (*J. of Hygiene*, 1934, 34, p. 542.)
5. Hadfield (B.), Magu (V.) and Bruce (C.): « The lysis of fibrin by streptococci. » (*Lancet*, 1934, 1, p. 834.)
6. Long (P.) and Bliss (E.): « Studies upon minute hemolytic streptococci. » (*J. exp. Med.*, 1934, 60, p. 619).
7. Plummer (H.): « The fermentation of sorbitol and trehalose by haemolytic streptococci from various sources. » (*J. Bact.*, 1934, 27, p. 465.)
8. Reis (Jose) et Swenson (Annita): « Hydrolyse de l'hippurate de sodium par des bactéries et spécialement par celles du genre streptocoque. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1931, 107, p. 647.)
9. Smith (J.): « Further studies on the serological classification of haemolytic streptococci. » (*J. Hyg.*, 1927, 26, p. 420.)
10. Tillett (W.) and Garner (L.): « The fibrinolytic activity of haemolytic streptococci. » (*J. exp. Med.*, 1933, 58, p. 485.)
11. Tillett (W.-S.): « The fibrinolytic activity of haemolytic streptococci in relation to the source of strains and to cultural reactions. » (*J. Bact.*, 1935, 29, p. 111.)

NOTE PRÉLIMINAIRE CONCERNANT L'EMPLOI DE LA TUBERCULINE POUR LE DÉPISTAGE DE L'INFECTION TUBERCULEUSE DANS LES COLLECTIVITÉS [1])

par

M. NASTA, V. SEICARU et M. H. DUMITRESCO

(Institut Ioan Cantacuzino, Bucarest)

I. — *TITRATION DE LA TUBERCULINE EMPLOYÉE*

Au cours de nos enquêtes épidémiologiques en Roumanie, nous avons utilisé comparativement la tuberculine préparée à l'Institut de Sérums et Vaccins « Docteur J. Cantacuzène », de Bucarest, standardisée, en même temps que la tuberculine « standard » fournie par l'Institut de Sérums de l'Etat danois. Ces recherches ont porté sur des enfants des écoles primaires de Bucarest.

A. — Un nombre de *109 garçons* d'une école primaire ont reçu par voie intradermique, à l'avant-bras gauche, une dose de 0,1 cc. de dilution 1 pour 10.000 de la tuberculine à titrer, tandis qu'au bras droit, ils recevaient une même dose de tuberculine « étalon ».

Sur *95 fillettes* d'une école primaire, nous avons pratiqué le titrage de la même manière ; mais cette fois chaque sujet recevait à chaque avant-bras deux injections intradermiques, l'une avec la dilution de 1/10.000, l'autre avec la dilution de 1/100.000.

Voici le résultat de ces recherches :

Sur les 109 garçons, nous avons eu 38 réactions positives, soit 34,5% ; sur les 95 filles, 46 réactions positives, soit 48,3%.

[1]) Reçu septembre 1939.

Avec les dilutions à 1/10.000, *les réactions ont été concordantes avec les deux tuberculines*, non seulement en ce qui concerne la nature de la réaction, — positive ou négative, — mais aussi en ce qui concerne son intensité, avec de petites différences de 1-2 millimètres à l'avantage tantôt de l'une, tantôt de l'autre des deux tuberculines employées. Dans deux cas, la réaction a été de 10 millimètres avec la tuberculine étalon, et de moins de 5 millimètres avec notre tuberculine.

Sur les 46 réactions positives, chez les fillettes qui avaient reçu les deux dilutions de 1/100.000 et 1/10.000, il y en eut 35 chez lesquelles la réaction a été positive avec les deux dilutions, tandis que, chez 11, elle n'a été positive qu'avec la dilution à 1/10.000. Même avec la dilution à 1/100.000, nous n'eûmes pas à enregistrer des différences notables entre les deux tuberculines ; en effet, en dehors de deux cas dans lesquels la réaction à 1/100.000 a été positive seulement avec la tuberculine étalon, et deux autres cas, où au contraire elle n'a été positive qu'avec notre tuberculine, la concordance a été parfaite chez tous les autres sujets.

B. — Dans une seconde série de recherches, nous avons pratiqué des intradermoréactions comparatives avec les deux tuberculines sur des jeunes filles d'une école secondaire de *11 à 16 ans*.

Sur les 46 réactions pratiquées avec les deux tuberculines chez 21 sujets, la seule dilution employée a été celle de 1/10.000 ; chez 26, les deux dilutions de 1/10.000 et 1/100.000. Enfin, chez 10 sujets, la réaction a été pratiquée avec les deux dilutions de la tuberculine roumaine. Le pourcentage des réactions positives a été de 64,6%, soit 42 réactions positives sur un total de 65.

Comme pour la série précédente, il y a eu en général concordance entre les résultats obtenus avec les deux tuberculines. Dans un seul cas, la réaction a été positive avec la dilution à 1/10.000 avec la tuberculine danoise, et négative avec la dilution à 1/100.000 de cette même tuberculine, ainsi qu'avec les deux dilutions de la tuberculine roumaine. Nous avons enregistré en plus une petite différence en ce qui concerne la dimension de la zone d'œdème qui a été peut-être plus souvent de moindres dimensions avec la tuberculine roumaine, quoique, chez certains individus, c'est le contraire qui se soit produit. Cette différence nous a paru parti-

culièrement évidente pour les réactions à la dilution à 1/100.000, généralement beaucoup plus faibles que celles obtenues dans la série précédente.

II. *VALEUR COMPARÉE DE L'INTRADERMO- ET DE LA CUTIRÉACTION*

Chez 89 enfants entre huit et onze ans, 39 fillettes et 55 garçons, nous avons pratiqué à l'un des avant-bras l'intradermoréaction, avec 0,1 cc. de la dilution à 1/10.000, et à l'autre la cutiréaction avec une goutte de la tuberculine brute non diluée.

Sexe	Âge	Nombre des sujets	Positives intra-dermo	Positives cuti.	Pourcentage. Réactions positives	
					intra-dermo %	cuti %
Filles	8- 9	39	25	20	63,5	52,6
Garçons	8- 9	30	17	13	56	43
»	9-10	16	12	8	75	25
»	10-11	9	5	5	55	55
Total	8-11	94	59	46	60	49,9

Nous avons donc obtenu un surplus de 10% de réactions positives à l'avantage de l'intradermoréaction pratiquée avec 0,1 cc. de la dilution à 1/10.000.

En pratique, on peut considérer la cutiréaction comme approximativement égale en sensibilité à l'intradermoréaction pratiquée avec 0,1 cc. de la dilution à 1/10.000 mgr. de tuberculine), et certainement nettement inférieure à l'intradermoréaction avec 0,1 cc. de la dilution à 1/1.000 (0,1 mgr. de tuberculine).

III. *LECTURE DES RÉSULTATS*

Nous avons toujours fait la lecture des réactions après 48 heures. A ce sujet, nous avons à faire la remarque suivante: très souvent les observateurs sont embarrassés quant à l'importance et la signification des réactions très faibles, au-dessous de

5 millimètres par exemple; notre expérience, à ce sujet, nous enseigne qu'il faut considérer comme positives même les plus faibles réactions. Deux faits nous imposent ce point de vue. En comparant les résultats obtenus avec deux tuberculines différentes, nous n'avons presque jamais trouvé une réaction positive, aussi faible fût-elle, qui le fût seulement avec l'une des tuberculines, étant négative avec l'autre. En second lieu, et cet argument nous semble plus concluant encore, dans tous les cas où la réaction était même très faiblement positive, à l'extrême limite, avec la dilution à 1/100.000 (0,001 mgr. de tuberculine), elle était toujours nettement positive avec la dose immédiatement supérieure à 1/10.000 (0,01 mgr. de tuberculine), preuve qu'il s'agissait bien d'une réaction spécifique. Enfin la différence entre ces réactions faibles et les réactions négatives était toujours parfaitement nette, ces dernières (lecture après 48 heures) ne présentant plus la moindre trace du traumatisme de l'injection.

Notre impression est que la moindre rougeur consécutive à l'intradermoréaction doit être considérée comme très probablement due à une réponse spécifique de l'organisme, et qu'il y a lieu en ces cas de rechercher la confirmation par une seconde intradermoréaction avec une dose plus forte de tuberculine.

IV. *CONSIDÉRATIONS SUR LA DOSE DE TUBERCULINE À EMPLOYER AU COURS DES ENQUETES ÉPIDÉMIOLOGIQUES*

Si l'on consulte les différents travaux concernant le dépistage de l'infection tuberculeuse au moyen de l'intradermoréaction à la tuberculine, on constate que les doses employées varient d'un auteur à l'autre, les doses les plus couramment employées étant cependant celles de 0,1 mgr. (0,1 de la dilution à 1/1.000) et de 0,01 mgr. (0,1 de la dilution à 1/10.000).

A la suite de notre expérience récente, dont les données peuvent être comparables à celles obtenues en d'autres pays, étant donné que la tuberculine employée était d'un titre connu, par rapport à la tuberculine standard, ainsi que des nombreuses enquêtes effectuées jusqu'à ce jour sur plusieurs milliers d'en-

fants, nous avons l'impression que ces doses ne peuvent pas être indifféremment utilisées dans n'importe quel milieu endémique.

Ainsi, en utilisant couramment la dose de 0,01 mgr. (0,1 de la dilution à 1/10.000), dans le milieu scolaire urbain, nous avons toujours enregistré une assez forte proportion de réactions de grande intensité, non seulement comme dimensions de la zone centrale d'infiltration (de 30 millimètres et plus), mais aussi comme caractère de cette infiltration, accompagnée de phlyctènes, points échymotiques et même parfois tendance à la nécrose. Il nous semble donc qu'il y aurait des inconvénients assez graves à employer dans ce milieu une dose plus forte, ce qui pourrait exposer certains sujets à des accidents sinon graves, mais en tout cas bien désagréables.

Si dans d'autres pays on emploie couramment une dose plus forte, il faut supposer que pareils inconvénients n'ont pas été signalés. Nous avons l'impression que cette différence dans la manière de réagir tient au degré différent de l'endémie tuberculeuse, d'un côté, et à l'âge des sujets examinés, d'un autre.

En effet, nous avons été frappés récemment que dans un milieu scolaire moins infecté, puisque le pourcentage des réactions positives n'était que de 34,5% pour les garçons et de 48,3% pour les filles, la fréquence de réactions très intenses était moindre que dans un autre groupe où ce pourcentage était de 60,9% chez les filles et de 56,7% chez les garçons. De même, dans nos enquêtes antérieures, nous avions déjà remarqué cette même différence entre les enfants du milieu rural, moins infecté, et ceux du milieu urbain, à infection plus répandue.

Dans un milieu que l'on suppose fortement contaminé, il faut donc s'attendre non seulement à un plus fort pourcentage de réactions positives, mais aussi bien à une plus forte proportion de réactions intenses. Dans un pareil milieu, il nous semble prudent, et en même temps suffisant, de ne pas dépasser la dose de 0,01 mgr., soit 0,1 de la dilution à 1/10.000, et cela surtout s'il s'agit d'enfants des écoles primaires.

Si nous insistons sur ce dernier point, c'est que notre attention a été attirée par deux faits. En premier lieu, nous avons constaté que chez les jeunes filles d'une école secondaire, entre douze et seize ans, qui nous ont donné un pourcentage de réactions posi-

tives de 64,6%, donc supérieur à le plus forte fréquence trouvée chez les enfants des écoles primaires, l'intensité des réactions n'a presque jamais atteint celle des réactions obtenues chez ces derniers.

D'autre part, au cours de nos enquêtes annuelles dans les écoles primaires, nous avons été surpris par le fait que, chez tous les enfants chez lesquels nous avions la certitude de nous trouver en présence d'une infection récente (enfants qui n'avaient pas réagi à une réaction précédente et qui entre temps étaient devenus positifs), les réactions étaient invariablement très intenses.

Nous pensons donc que les infections de date récente s'accompagnent d'une grande sensibilité à la tuberculine, et que c'est parmi les sujets qui sont dans cette condition que nous devons nous attendre à rencontrer les réactions les plus fortes. Or, comme plus les sujets sont jeunes, plus il est probable que l'infection dont ils sont porteurs soit de date récente, il est naturel que ce soit dans cette catégorie que les réactions seront plus intenses.

Ce fait est d'ailleurs en concordance avec les données déjà plus anciennes de Opie et Mc Phedran, que nous avons pu confirmer nous-mêmes, que c'est parmi les groupes à sensibilité tuberculinique plus marquée que l'on rencontre aussi la plus grande fréquence de lésions actives ou latentes.

En conclusion, il nous semble donc que, pour les collectivités d'enfants, dans un milieu à forte endémie tuberculeuse, la dose de choix à adopter est celle de 0,01 mgr. (0,1 de la dilution à 1/10.000). Ce n'est que pour les groupes d'âge plus avancé, et dans les milieux à endémie moyenne ou faible, qu'il y aurait lieu d'avoir recours à des doses plus fortes.

PRÉSENCE DU BACTÉRIOPHAGE DANS LES EAUX. SON IMPORTANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE [1])

par

Ion COCIOBA

(Laboratoire de bactériologie, Faculté de Médecine de Bucarest et Institut Docteur Cantacuzino)

L'un des problèmes les plus discutés dans le domaine de la bactériophagie est celui de la présence du phage dans la nature, et surtout l'importance épidémiologique et sa présence éventuelle dans les eaux.

Depuis les débuts des études sur le principe lytique, on avait constaté qu'il est largement répandu dans la nature. Dumas l'a isolé dans l'eau de la Seine, Beckerich et Hauduroy, Arloing et Chavanne, Fabry, Bujanowski, Araujo, Gildemeister et Watanabe, Schlossmann, Joseph Nick, ont mis en évidence la présence du phage dans l'eau des diverses rivières et sources d'eau. M. Renaux, F. Dienert, Couture et autres envisagent différemment l'importance de la présence du bactériophage dans les eaux pour apprécier le degré de pollution de celles-ci.

Nous nous sommes proposé de reprendre cette question tellement discutée et d'étudier les relations entre la présence du bactériophage et les espèces microbiennes d'origine intestinale d'une part, et d'autre part les relations éventuelles entre l'apparition du bactériophage spécifique et une certaine saison épidémique due aux germes du groupe *Salmonella*.

Notre objet d'étude est représenté par des sources variées d'eau:

([1]) Reçu juin 1939.

1° Eau de la rivière D..., en amont, au cours de sa traversée de la ville, et en aval de la ville de B...;

2° Echantillon d'eau pris dans la station des filtres de la ville de B...;

3° Eau de conduite de la ville de B...;

4° Eau d'alimentation de la ville de Bar...;

5° Echantillons d'eau de puits prélevés dans trois communes rurales différentes, dont quelques-unes en état d'endémicité typhoïdique.

La variété de ces sources d'eau, les examens répétés aux diverses périodes de l'année et les conditions épidémiologiques différentes, nous ont offert un riche matériel d'étude.

ISOLEMENT DU PRINCIPE LYTIQUE. MÉTHODES D'ENRICHISSEMENT

On obtient très rarement le phage par la filtration directe de l'eau. On peut l'obtenir seulement dans les eaux extrêmement polluées et très riches en bactériophage. Dans la majorité des cas, un enrichissement préalable de l'eau en bactériophage est nécessaire. Plusieurs méthodes ont été proposées dans ce but. La méthode la plus simple est celle indiquée par d'Hérelle, qui consiste dans l'ensemencement d'une quantité d'eau dans le même volume de bouillon simple, incubation pendant 24 heures à 37°. Le filtrat obtenu sur bougie Chamberland L_3 peut contenir le bactériophage dont on peut constater l'action lytique, en faisant agir une goutte de filtrat sur une culture jeune d'un germe lysosensible en bouillon, ou par le procédé de la goutte coulante, à la surface d'une culture jeune (4 heures) sur gélose inclinée d'un germe lysosensible. Après une incubation de 24 heures à 37°, la lyse se manifeste par l'apparition de « taches vierges » ou une clarification de la couche microbienne sur la trace laissée par la goutte de filtrat à la surface de la gélose.

Une autre méthode est celle de Nyberg, qui diffère de la première par l'adjonction au mélange eau-bouillon d'une certaine quantité de germes lysosensibles correspondants. Si l'on cherche dans le même échantillon d'eau des phages différents, on fait des ensemencements similaires dans différents ballons, auxquels

on ajoute une goutte de culture pour chaque germe respectivement. Il est recommandable d'ensemencer plusieurs souches de germes d'une même espèce ou d'espèces différentes. On essaie l'action lytique des filtrats obtenus sur les cultures des germes respectifs, en milieu solide ou liquide ou plutôt sur les deux milieux à la fois.

Au cours de nos recherches, comme l'on peut le voir dans la série de tableaux qui suivent, nous avons pu constater que la technique de Nyberg est beaucoup plus sensible que la première. Toutefois, par la méthode d'enrichissement avec une ou plusieurs souches de germes lysosensibles d'une même espèce microbienne, on ne peut pas mettre en évidence la présence du bactériophage quand celui-ci se trouve en quantité minime.

TABLEAU I

Filtrats	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
FC	—	—	—
FD	—	—	—
FT	—	—	—
FC + D + T	++	++	—

Nous indiquons dans nos tableaux les différents filtrats comme suit:

F = filtrat obtenu de l'eau à examiner (sans ensemencement ou incubation préalable).

FO = filtrat obtenu après l'ensemencement de l'eau à examiner dans du bouillon simple, sans adjonction d'un germe quelconque (incubation: 24 heures à 37°).

FC, FD et FT représentent des filtrats obtenus à la suite de l'enrichissement avec une seule espèce bactérienne, respectivement le B. Coli (FC), le B. Shiga (FD) et le B. typhique (FT) (incubation: 24 heures à 37°).

FC + D + T représente enfin le filtrat obtenu par l'enrichissement avec les trois espèces microbiennes (B. Coli, B. Shiga et B. typhique) ensemencées en même temps dans le mélange eau-bouillon (Incubation: 24 heures à 37°).

L'action lytique des filtrats est notée dans nos tableaux de la manière suivante:

++++ = lyse totale.
+++ = lyse incomplète (résistants).
++ = lyse manifestée par un nombre de 20 plages au moins.
+ = lyse manifestée par un nombre de plages de 1 à 20.
— = absence de lyse.

Nous donnons ci-dessous l'exemple d'un enrichissement d'une eau de conduite, dont on a obtenu des filtrats par le procédé de Nyberg, à l'aide de souches lysosensibles de B. Coli, B. Shiga et B. typique. Trois ballons différents contenaient le mélange eau-bouillon ensemencé chacun avec le germe respectif. Les filtrats (FC, FD et FT) n'ont manifesté aucune action lytique vis-à-vis des germes correspondants. Par contre, en ensemençant en même temps une goutte de culture de chacun de ces germes dans un seul ballon contenant le même mélange eau-bouillon, nous avons obtenu un filtrat (FC + D + T) actif pour le B. Coli et le B. Shiga.

Un autre exemple de la sensibilité de ce dernier procédé est fourni par l'échantillon suivant (voir tableau II). L'enrichissement, effectué séparément avec ces différents germes, a mis en évidence un phage anti-Coli et un phage anti-dysentérique (FC et FD), tandis que, par un enrichissement simultané avec les trois germes, on a obtenu un filtrat (FC + D + T) qui est actif également sur le B. typhique. D'autre part, la lyse du B. Coli et du B. dysentérique produite par ce dernier filtrat est plus accentuée que celle produite par les filtrats obtenus par enrichissement avec des B. coli et des B. dysentériques séparément.

TABLEAU II

Filtrats	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
F	—	—	—
FO	—	—	—
FC	+++	—	—
FD	+++	+++	—
FT	—	—	—
FC + D + T	++++	++++	++

Pour établir les conditions optima de mise en évidence du principe lytique dans les eaux, nous avons essayé une série de modifications des procédés d'enrichissement. Le tableau III représente l'action lytique de quelques filtrats provenant d'une même échantillon d'eau obtenu à la suite de l'enrichissement: 1° avec des germes séparés (FC, FD et FT); 2° en associant par couples

les germes utilisés (FC + D; FC + T; FD + T; FC + D + T); 3° filtrat obtenu par ensemencement de l'eau dans du bouillon, sans adjonction d'un germe d'enrichissement (FO); 4° par des mélanges de filtrats (FC + FD, FC + FT, FD + FT et FC + FD + FT). Les filtrats obtenus par l'enrichissement avec le B. Coli (FC) et avec le B. Shiga (FD) lysent chacun le germe respectif. Le filtrat obtenu par l'enrichissement de l'eau en bactériophage par l'ensemencement de cette eau en bouillon et sans adjonction d'un germe quelconque (FO), ainsi que celui obtenu par l'ensemencement du B. typique (FT), ne manifestent aucune action lytique. L'ensemencement concomitant du B. typhique avec le B. Coli ou dysentérique a eu comme résultat l'apparition dans les filtrats respectifs (FC + T et FD + T) de nouvelles fonctions lytiques. Tandis que les filtrats FC et FD lysaient chacun seulement le germe avec lequel ils ont été obtenus (B. Coli et B. Shiga), les filtrats FC + T et FD + T provoquaient autant la lyse du B. Coli que celle du B. Shiga. En même temps, le bactériophage anti-typhique absent dans le filtrat FT obtenu par l'enrichissement avec du B. typique, est mis en évidence dans les filtrats FC + T et FC + D + T, obtenus par l'ensemencement concomitant du B. typhique avec le B. Coli ou avec le B. Coli et le B. Shiga. L'action lytique la plus prononcée est manifestée par le filtrat FC + D + T.

L'action du mélange de filtrats (FC + FD, FC + FT, RD + FT et FC + FD + FT) représente la somme de leur action séparée.

TABLEAU III

Filtrats	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
FO	—	—	—
FC	+ + +	—	—
FD	—	+ +	—
FT	—	—	—
FC + D	+ + +	+ + +	—
FC + T	+ + +	+ + +	+
FD + T	+ +	+ + +	—
FC + D + T	+ + + +	+ + + +	+ + +

Filtrats	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
FC + FD	++++	+++	—
FC + FT	++++	—	—
FD + FT		+++	—
FC + FD + FT	++++	+++	—

En répétant à plusieurs reprises ces expériences comparatives, nous avons pu toujours constater l'avantage incontestable de l'enrichissement par l'ensemencement simultané de plusieurs espèces microbiennes lysosensibles. Nous rappelons que, pour nos recherches, nous avons limité à trois le nombre des espèces microbiennes utilisées, à savoir: B. Coli, B. Shiga et B. typhique.

Voici, en détails, la *technique* à l'aide de laquelle nous avons obtenu les meillleurs résultats: dans un ballon contenant 30 centimètres cubes de bouillon simple, on ajoute la même quantité de l'eau à examiner.

La quantité de 5 centimètres cubes indiquée par Nyberg s'est montrée insuffisante dans le cas des eaux pauvres en phage. A la suite de plusieurs essais, nous avons trouvé que la quantité de 30 centimètres cubes nous donnait les résultats les plus constants. A ce mélange, on ajoute ensuite une anse d'une culture jeune (quatre à six heures) en bouillon de B. Coli, de B. Shiga et de B. typhique. Si l'on cherche des bactériophages pour d'autres espèces bactériennes, on utilise des souches lysosensibles des espèces correspondantes. Il est bien entendu qu'avant l'utilisation d'une souche pour enrichissement, il faut l'examiner au point de vue de sa lysogénéité et n'en utiliser que des souches lysables et pas lysogènes.

Les mélanges une fois faits sont laissés pendant 24 heures à 37° (ou à 30°). On filtre sur bougie Chamberland L_3 ou par le Seitz.

On examine l'action lytique des filtrats, soit par le procédé de la goutte coulante, soit en milieu liquide.

Dans les tableaux V et VII, nous avons exposé les résultats obtenus par le procédé de l'enrichissement à l'aide d'une seule espèce microbienne, le B. Coli (FC), ou le B. Shiga (FD), ou le

B. typhique (FT). Il résulte de ces tableaux que, pour le même échantillon d'eau, les résultats obtenus après l'enrichissement avec des germes séparés sont fort différents. Certains bactériophages sont présents dans certains filtrats seulement et ils manquent dans d'autres qui proviennent d'un même échantillon d'eau. En ce qui concerne l'intensité de la lyse provoquée par les différents filtrats d'une même source d'eau, on remarque une diversité tout aussi grande. Si nous utilisons ce procédé (enrichissement avec germes séparés), nous sommes obligés de préparer autant de filtrats que d'espèces microbiennes utilisées, étant donné que certains phages, par exemple celui anti-typhique, n'apparaissent que dans certains filtrats. Un exemple démonstratif dans ce sens est présenté dans le tableau V. Pour l'échantillon d'eau récoltée le 4 juin 1937, le principe lytique anti-typhique apparaît dans les filtrats FO et FD et manque dans les autres filtrats, tandis que pour l'échantillon d'eau récoltée le 8 juillet 1937, le principe lytique est présent dans les filtrats FO, FC et FT. Quelquefois il arrive que certains bactériophages ne peuvent pas être mis en évidence par ce procédé, et il faut avoir recours à l'enrichissement par plusieurs espèces bactériennes ensemencées simultanément. Nous n'avons jamais pu constater, au cours de nos nombreux essais comparatifs, qu'un phage, présent dans un des filtrats obtenus par l'enrichissement avec une seule espèce bactérienne, fût absent dans le filtrat obtenu par le procédé d'enrichissement avec plusieurs espèces à la fois. Nous considérons ce second procédé (enrichissement avec plusieurs espèces à la fois) supérieur aux autres parce qu'il nous permet une importante économie de matériel et de temps, et qu'il est d'une sensibilité supérieure.

Toutefois, quand il s'agit d'eau excessivement pauvre en principe lytique, il peut arriver que, même avec ce procédé, on ne réussisse pas à mettre en évidence le bactériophage après un premier essai d'enrichissement. Dans ces cas, un deuxième enrichissement est souvent nécessaire. On ajoute, au filtrat obtenu à la suite du premier enrichissement, une quantité égale de bouillon stérile, et on réensemence le tout avec une anse de chaque culture de germes lysosensibles pour lesquels on cherche le bactériophage. On remet à 37°, on filtre après 24 heures, et on exa-

TABLEAU IV

Numero de l'échantillon	Nombre des B. Coli par litre	Premier enrichissement			Deuxième enrichissement			Troisième enrichissement		
		Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
1.....	40	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2.....	0	—	—	—	—		—	—	—	—
3.....	0	—	—	—	—	—	—		—	—
4.....	60	+++	—	—						
5.....	20	—	—	—	++	—	—			
6.....	40	—	—	—	—	+++	—			
7.....	0	—	—	—	—	—	—		—	—
8.....	40	—	—	—	+++	—	—			
9.....	20	—	—	—	—	—	—		—	—
10.....	20	—	—	—						
11.....	0	—				—			—	—
12.....	0	—					—			—

mine de nouveau le filtrat obtenu: des phages, qui n'étaient pas présents après le premier enrichissement, peuvent généralement apparaître après ce deuxième enrichissement.

Le tableau IV contient les résultats obtenus avec 12 échantillons d'eau différents. Après un premier enrichissement, nous n'avons pu mettre en évidence le phage que dans un seul échantillon (n° 4). Un deuxième enrichissement, effectué de la manière indiquée plus haut, nous donne quatre échantillons positifs en plus (n° 5, 6, 8 et 10). Après un troisième enrichissement, nous ne constatons plus aucun changement dans nos résultats.

Il s'agit dans ce cas d'eaux très peu polluées, relativement pauvres en colibacilles et très pauvres également en bactériophage. Malgré les enrichissements répétés, le principe lytique n'a pas pu être mis en évidence dans aucun des échantillons dont l'examen bactériologique est resté négatif pour le bacille Coli. Il s'ensuit qu'on ne peut conclure à l'absence du phage dans une eau à la suite d'un seul enrichissement; les enrichissements répétés s'imposent.

Il faut noter qu'en même temps que la recherches du bactériophage dans un échantillon d'eau, nous avons également fait la numération des germes pour chaque échantillon et la colimétrie. Dans ce but, nous avons utilisé les méthodes standard employées par les bactériologistes américains (Standard Methods of Water Analysis-American Public Health Association).

PRÉSENCE DU BACTÉRIOPHAGE DANS L'EAU DE LA RIVI RE D..., EN AMONT, AU NIVEAU DE LA TRAVERSÉE DE LA VILLE, ET EN AVAL DE LA VILLE DE B..., ET SES VARIATIONS SAISONNIÈRES

Nos examens ont été commencés au mois de mars 1937, et ils ont été poursuivis jusqu'en janvier 1938, c'est-à-dire sur une période d'à peu près un an.

La D... est une rivière à un débit relativement réduit, qui traverse la ville de B... (800.000 habitants) et, pendant ce parcours, reçoit les eaux d'égout de cette ville, sans une épuration préalable.

L'eau de la rivière, dans la portion qui parcourt la ville, ainsi qu'après sa sortie de la ville, est très polluée. En amont de la ville, elle alimente les installations des filtres qui, avec deux batteries de puits, fournissent l'eau d'alimentation de la ville.

Nous avons récolté, à différentes périodes de l'année, des échantillons d'eau à un point situé à peu près au milieu de son parcours en ville (*C*), voir le schéma de la ville de B...]. Les résultats de nos analyses sont exposés dans le tableau V qui nous montre que le nombre total des germes, ainsi que celui des bacilles Coli, atteint son maximum pendant le mois d'août, géné-

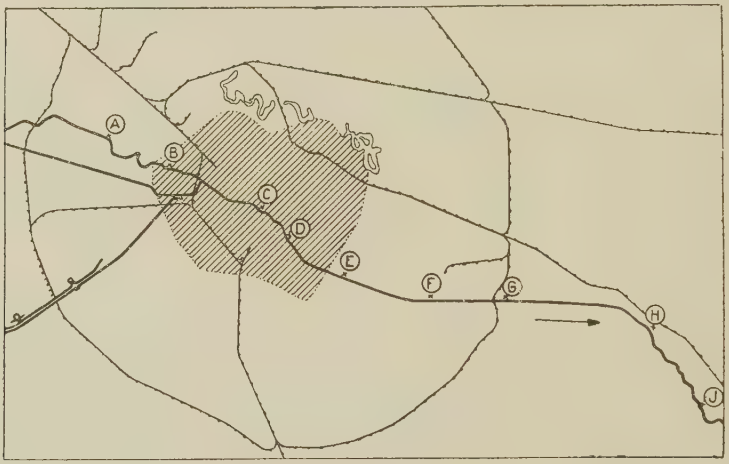


SCHÉMA DE LA VILLE DE B... TRAVERSÉE PAR LA RIVIÈRE D...
(Les endroits des prélèvements d'eau sont indiqués par des lettres.)

ralement le plus chaud de l'année. C'est également au cours de ce mois que le bactériophage est plus abondant. Le principe lytique anti-typhique particulièrement, qui est absent ou en petite quantité pendant la saison froide, est trouvé en abondance pendant la saison chaude de l'année. Les bactériophages anti-Coli et anti-dysentérique sont présents dans l'eau de la rivière pendant toute la durée de l'année. Le titre plus élevé est constaté au mois d'août. Il est à remarquer que, malgré l'extrême pollution de cette eau et sa richesse en bactériophages, ceux-ci ne peuvent être mis en évidence qu'exceptionnellement, par le simple procédé de la filtration de l'eau (8 juillet 1937).

TABLEAU V

Variations saisonnières des bactériolophages dans l'eau de la rivière D...

Jour du prélèvement	Nombre des germes par 1 cc.	Nombre des B.-Coli par 1 cc.	Filtrats	Bactério-pahge anti-Coli	Bactério-phage anti-dysen-térique	Bactério-phage anti-typhique
13-III-1937 ..	845	64.000	F	—	—	—
			FO	++	+++	—
			FC	++	+	—
			FD	+	+	—
			FT	+	+	—
3-V-1937 ...	5.524	100.000	F	—	—	—
			FO	++	+	—
			FC	+	+	—
			FD	++	++	—
			FT	++	+	—
4-VI-1937 .	4.690	64.000	F	—	—	—
			FO	+	+	+
			FC	++	+++	—
			FD	++	+	++
			FT	++	+	—
8-VII-1937 .		100.000	F	—	+	—
			FO	++	++	+
			FC	+++	++	+
			FD	+	+	—
			FT	++	+	+
13-VII-1937 .	74.900	4.600 000	F	—	—	—
			FO	+++	++	++
			FC	+++	+++	++
			FD	+++	+++	+++
			FT	++	++	++
23-XII-1937..	22.000	1.000	F	—	—	—
			FO	++	+	+
			FC+D+T	+++	+++	++
26-I-1938....	196.000	8.200	F	—	—	—
			FO	—	—	—
			FC	++	+++	—
			FD	++	+++	—
			ET	++	++	+

Prélèvements effectués dans un point *(C)* de la rivière, situé au milieu de son parcours en ville.

Dans le tableau VI, nous exposons une autre série de quatre récoltes consistant chacune de plusieurs échantillons prélevés avant, au cours et après la sortie de la rivière de B... Le cours de la rivière où nous avons fait nos prélèvements d'eau est

TABLEAU VI

Variation du principe lytique le long du cours de la rivière D...

Jour du prélèvement	Endroit de la prise des échantillons d'eau (voir le schema)	Nombre des germes par 1 cc.	Nombre des B. Coli par 1 litre	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
8-VII-1937 .	A.		>100.000	+	+	—
	B.		>100.000	+	+	—
	D.		>100.000	+ +	+ +	—
	E.		>100.000	+ +	+ +	—
	G.		>100.000	+	+	+
13-VIII-1937 .	A.	1.000	46.000	+ +	+ +	+ + +
	C.	74.000	4.600.000	+ + +	+ +	+ +
	E.	820.000	8.200.000	+ + +	+ +	+ + +
	F.	580.000	8.200.000	+ +	+ +	+ +
	G.	680.000	10 000.000	+ +	+ +	+ +
	H.	773.000	10 000.000	+ +	+	+
23-XII-1937..	A.	8.820	64	+	—	—
	C.	22.320		+ +	+	+
	D.	32.920		+	+	—
	E.	493.000	6.040	+ +	+	+
	H.	549.000	4.240	+	+	+
	J.	496.000	6.220	+ +	+ +	+
26-I-1938....	A.	276	226	—	—	—
	E.	196.000	8.200	+ +	+	+
	J.	387.000	62.000	+ +	+ +	+ +

compris sur une longueur de 30 kilomètres environ. Deux récoltes ont été faites en hiver et les deux autres pendant l'été (voir le schéma de la ville de B...).

Le nombre total de germes, ainsi que celui de colibacilles, s'accroît à mesure qu'on suit le cours de la rivière en aval de la ville ; la quantité maxima constatée est atteinte au mois d'août.

La quantité de bactériophage, en général, augmente aussi à mesure qu'on descend la rivière. Le principe lytique anti-typhique est absent ou en petite quantité en amont de la rivière pendant la période froide de l'année, et ne commence à apparaître que dans les échantillons récoltés dans la portion de sa traversée de la ville. Au mois d'août, la présence du bactériophage a été constatée en grande quantité sur tout le parcours de la rivière. Il commence à diminuer dans les échantillons récoltés à 12 kilomètres du dernier égout qui déverse dans la rivière (H).

Nous tenons à attirer l'attention que, dans ce tableau VI, nous avons indiqué l'action des filtrats obtenus par simple ensemencement de l'eau sur bouillon suivi d'incubation de 24 heures à 37° (FO). Comme il s'agit d'eaux très polluées et riches en phage, presque tous les filtrats obtenus par des procédés d'enrichissement, plus sensibles, manifestaient une action lytique tellement puissante que les différences entre les divers échantillons étaient très peu marquées.

VARIATION DU BACTÉRIOPHAGE AU COURS DES OPÉRATIONS DE FILTRATION DE L'EAU SUR DES FILTRES DE SABLE

Comme nous l'avons indiqué déjà plus haut, une partie de l'eau d'alimentation de la ville de B... provient de la rivière D... soumise à la filtration lente sur filtres de sable. Ces installations se composent de: bassins de décantage, dégrossisseurs, préfiltres et filtres de sable (lentes), situés à un point avant son entrée à B... Nous étudierons les modifications qui surviennent au cours des opérations de filtration de l'eau, en ce qui concerne son contenu en germes, B. Coli et bactériophage.

Des échantillons d'eau de ces installations de filtre ont été récoltés et examinés, le 2 avril, le 4 août et le 6 septembre 1739. Comme ces résultats ont été comparables, nous donnons ici seulement les analyses d'eau exécutées le 4 août 1937, les autres analyses pouvant être trouvées ailleurs (21).

Nous avons échelonné nos récoltes au cours des diverses phases de purification, à savoir: 1° l'eau de la rivière, avant son entrée dans les bassins de sédimentation mentionnée dans le tableau VII,

TABLEAU VII

Variation du phage au cours des opérations de filtration de l'eau.

Echantillons d'eau	Nombre des germes par 1 cc.	Nombre des B. Coli par 1 litre	Filtrats	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
Eau non filtrée	6.000	82.000	F	—	—	—
			FO	+ + + +	+ + + +	+
			FC	+ + + +	+ + + +	+
			FC	+ + + +	+ + + +	+ +
			FT	+ +	+ + + +	+ + +
Eau décantée	280	24.000	F	—	+	—
			FO	+ +	+ + + +	—
			FC	+ + + +	+ + + +	+ +
			FD	+ + + +	+ + + +	+ +
			FT	+ +	+ + +	+ + +
Eau dégrossie ..	84	24.400	F		-	—
			FO	+ +	—	—
			FC	+ + +	+ + + +	—
			FD	+ +	+ + +	+
			FT	+	+ +	+
Eau préfiltrée ..	64	4.600	F	—	+	-
			FO	+	+	—
			FC	+ + +	+ + + +	—
			FD	+ + +	+ + + +	+ +
			FT	+	+ + +	+ +
Eau filtrée	10	40	F	—	—	—
			FO	—	+	—
			FC	—	+	—
			FD	+	+	—
			FT	+	+ +	—
Eau de profondeur	0,04	0	F	—	—	—
			FO	—	—	—
			FC	—	—	—
			FD	—	—	—
			FT	—	—	—

sous le nom d'eau non filtrée; 2° eau des bassins de sédimentation immédiatement avant l'entrée dans le dégrossisseur (eau décantée); 3° après la sortie des dégrossisseurs (eau dégrossie); 4° après le passage par les préfiltrés (eau préfiltrée); 5° eau des canaux collecteurs des filtres (eau filtrée). Le dernier échantillon représente l'eau de profondeur récoltée dans la conduite de la batterie de puits.

Dans ce tableau, on peut constater qu'au cours des opérations de filtration, le nombre de germes et celui des bacilles Coli, ainsi que la quantité de bactériophage, diminuent progressivement. L'eau filtrée contient encore 40 colibacilles par litre. Les principes lytique ati-Coli et anti-dysentérique sont présents. Le phage anti-typhique, qui était présent dans l'eau préfiltrée, ne peut plus être mis en évidence dans l'eau une fois filtrée. Ce phage est le premier qui disparaît au cours des opérations de filtration.

LE BACTÉRIOPHAGE DANS L'EAU D'ALIMENTATION DE LA VILLE DE B...

Pour étudier le comportement du bactériophage dans l'eau d'alimentation de la ville de B..., des échantillons d'eau de conduite ont été prélevés à différents intervalles pendant une année. Dans le tableau VIII, nous donnons les résultats de ces analyses d'où l'on peut constater que le nombre des germes et celui des B. Coli varie dans des limites assez larges. La présence des B. Coli, quelquefois en nombre assez élevé, est due au fait que l'eau de surface, qui est employée pour l'alimentation, est purifiée par filtration seulement sans être chlorinée.

En ce qui concerne le bactériophage, celui-ci a été absent dans 7 sur 19 échantillons examinés; dans l'un des échantillons, nous avons pu trouver seulement le phage anti-dysentérique, tandis que dans le reste des échantillons examinés, le bactériophage anti-Coli, de même que l'anti-dysentérique, était présent. Leur action lytique était d'intensité différente.

Pour des eaux relativement pauvres en colibacilles (40 à 420 par litre), on ne peut constater un parallélisme entre l'intensité de la lyse et le nombre des germes trouvés. Ainsi, dans l'échantillon d'eau récoltée le 11 mai 1937, le principe lytique était absent,

TABLEAU VIII

Le phage dans l'eau d'alimentation de la ville de B...

Jour du prélèvement	Nombre des germes par cc.	Nombre des B. Coli par 2 litre	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
6-v-1937	4,6	280	—	—	—
7-v-1937	2,8	260	—	—	—
11-v-1937	6,8	420	—	—	—
12-v-1937	4,6	40	++	++	—
1-vi-1937	46	460	++	+++	—
10-vi-1937	8,2	40	—	—	—
20-vi-1937	12	280	++	++	—
1-vii-1937	2,8	260	+	+++	—
10-vii-1937	10	320	++	+++	—
20-vii-1937	4,6	260	—	—	—
2-viii-1937	16	200	—	+++	—
10-viii-1937	10	280	++++	+++	—
30-ix-1937	10	260	—	—	—
3-i-1938.....	82	280	+++	+++	—
7-i-1938			- - +	— + -	—
17-i-1938.....	46	260	+++	++++	—
12-ii-1938	8,2	40	+++	++++	—
4-vi-1938	6,4	280	—	—	—
9-vi-1938	8.2	60	+++	++++	—

quoique le nombre des bacilles Coli atteignait le chiffre de 420 par litre, tandis que dans l'échantillon du 12 février 1938, qui contenait seulement 40 colibacilles par litre, nous avons constaté la présence du phage anti-Coli, de même que de l'anti-disentérique.

Il faut noter que, malgré la présence d'un nombre appréciable de germes dans cette eau, on n'avait signalé à la même époque aucune épidémie à caractère hydrique dans la ville de B...

LE BACTÉRIOPHAGE DANS L'EAU D'ALIMENTATION DE LA VILLE DE BAR... (26.000 habitants)

Des petites épidémies de fièvre typhoïde étant apparues à différentes reprises dans la ville de Bar..., nous avons estimé intéressant pour nos recherches d'étudier l'eau d'alimentation de

cette ville. L'eau d'alimentation est fournie par des puits et des « sondes » d'une construction qui laisse beaucoup à désirer.

Pendant la dernière épidémie de 1937, on a enregistré 23 cas de fièvre typhoïde.

TABLEAU IX

Le bactériophage dans l'eau d'alimentation de la ville de Bar..., pendant l'épidémie de fièvre typhoïde (1937).

Numéro de l'échantillon	Présence du B. Coli	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
1	+	-		-
2	+	—	—	—
3	+	—	—	—
4	+	-	-	—
5	+	-	—	—
6	+	-	—	—
7	+	+ + +	+ + -	+ + +
8	+	+ + +	+ + + +	+ + +
9	+	—	—	—
10	+	-	—	—
11	+	-		-
12	+	—	-	—
13	+	—	—	- -
14	+		+ -	—
15	+		—	-
16	+		- -	-
17	+	—		-
18	+		+	- -
19	+	- + +	+ + + +	+ - + +
20	+	—	+	— +
21	+	+ + +	+ - +	+ + +
22	+	—	—	+ +
23	+	+ + +	+ + +	+ + +
24	+			
25	+	—	-	—
26	+	+ + +	+ + +	+ - +
27	+	—		-

Le 23 août de la même année, nous avons récolté 80 échantillons d'eau provenant de divers puits et « sondes » de cette ville.

Dans le tableau IX, nous donnons seulement les échantillons d'eau dans lesquels on a constaté la présence du B. Coli. Comme on peut le voir, 10 de ces échantillons contiennent également du bactériophage. A l'exception d'un échantillon (n° 14), tous les autres contiennent le principe lytique anti-typhique qui, dans la majorité des cas, manifeste une puissante action lytique sur les souches lysosensibles de ce bacille. Un fait à remarquer que, même dans les échantillons 20 et 22 où le phage anti-Coli est absent et celui anti-dysentérique est en petite quantité (+), le bactériophage anti-typhique manifeste sa présence par une lyse assez accentuée (++).

La richesss en bactériophage anti-typhique des eaux de Bar... suppose la présence du B. typhique dans ces mêmes eaux, fait qui est confirmé par l'état épidémiologique de la localité.

Il est à relever aussi que, dans aucun des 53 échantillons d'eau dans lesquels le colibacille a été absent, la présence du principe lytique n'a pas pu être mise en évidence. Nous avons pu faire la même constatation pendant tout le cours de nos recherches: la présence du bactériophage semble en relation directe avec l'existence du B. Coli dans ces eaux.

LE BACTÉRIOPHAGE DANS L'EAU D'ALIMENTATION DES COMMUNES RURALES [1])

Nous avons continué nos recherches sur les eaux d'alimentation des communes rurales; nous avons donc choisi une commune (Buc...) sans endémicité typhoïdique au cours des deux dernières années; une seconde (Corb...) dans laquelle on avait enregistré, du 8 août 1936 au 22 avril 1937, 9 cas de fièvre typhoïde; une troisième commune (Răc...) contaminée par la fièvre typhoïde au moment de la récolte des èchantillons d'eau.

([1]) Qu'il nous soit permis d'exprimer ici nos plus vifs remerciements à Monsieur l'inspecteur sanitaire docteur APOSTOLESCO; à Monsieur le docteur ALEXANDRESCO, médecin-chef du département Dâmbovitza, et à Monsieur le docteur GHIZDAVESCO, médecin-chef du département Ilfov, pour le précieux concours qu'ils nous ont donné pour être à même de recueillir le matériel nécessaire aux expériences.

Nous donnons ci-dessous les résultats des analyses (tableau X), ainsi que les données particulières pour chaque commune:

1° La commune de Buc... est un village de plaine (780 habitants). L'eau d'alimentation provient de puits dont la profondeur varie de 5 à 28 mètres. Pas de fièvre typhoïde au cours des deux dernières années.

Nous avons donc, le 15 mars 1938, examiné 12 échartillons d'eau provenant des principaux puits de la commune, au point de vue de leur contenu en bactériophage le nombre de colibacilles et celui des germes en général. Le tableau X montre pour la majorité des échantillons un nombre de germes qui varie de 100 à 700 pour 1 centimètre cube. Dans deux échantillons seulement, le nombre des germes est plus élevé (5.650 et 13.700). Le colibacille manque dans 5 échantillons; dans les autres, leur nombre varie de 20 à 60 par litre.

Le principe lytique a été mis en évidence dans cinq des échantillons examinés; une fois, un phage anti-dysentérique; dans les quatre autres échantillons, on a trouvé le bactériophage anti-Coli. On n'a pas trouvé de phage anti-typhique dans aucun de ces échantillons.

2° Commune de Corb... (1.887 habitants). L'eau d'alimentation examinée provient de 7 puits; on y avait enregistré, du 8 août 1936 au 22 avril 1937, 9 cas de fièvre typhoïde. On a récolté, le 11 mai 1938, 7 échantillons d'eau provenant des principaux puits de la commune.

Le colibacille a été trouvé dans tous ces échantillons; leur nombre variait de 100 à 460 par litre; le nombre total des germes variant de 44 à 4.820 par centimètre cube.

Nous avons trouvé le bactériophage anti-Coli et anti-dysentérique dans 5 échantillons d'eau, dont 2 contenaient également le bactériophage anti-typhique (voir tableau X).

3° Commune de Răc... (2.290 habitants). C'est une petite ville à population rurale; l'eau d'alimentation provient de puits, dont la profondeur varie de 15 à 20 mètres.

Une épidémie de fièvre typhoïde avait commencé au mois de juin 1938; 14 cas avaient été déclarés jusqu'au 21 juin, date à laquelle nous avons prélevé des échantillons d'eau provenant de 12 puits de la commune.

Le diagnostic de la fièvre typhoïde a été confirmé par des examens bactériologiques exécutés à l'Institut « Prof. I. Cantacuzino ».

Le tableau X montre que le nombre des germes varie dans ces eaux de 82 à 5.600, et celui du B. Coli de 280 à 46.000 par litre. Les ensemencements de deux échantillons (1 et 7) ont été envahis par le *Proteus* et l'on n'a pas pu calculer le nombre des germes. Nous avons trouvé le bactériophage anti-Coli et anti-dysentérique dans 7 de ces échantillons; 2 échantillons contenaient également du bactériophage anti-typhique.

Il est à remarquer que les premiers cas de fièvre typhoïde avaient été enregistrés parmi les habitants qui consommaient l'eau des puits dans lesquels nous avons trouvé le phage anti-typhique.

SOMMAIRE ET CONCLUSIONS

Les constatations, signalées au cours de ce travail, nous montrent que, pour réussir à mettre en évidence la présence du bactériophage dans les eaux, il faut en général procéder à un enrichissement de ces eaux en bactériophage. La méthode d'enrichissement en bactériophage, par ensemencement simultané de plusieurs espèces de germes lysosensibles dans le mélange à examiner « eau-bouillon », s'est montrée supérieure aux autres méthodes. On ne peut pas conclure à l'absence du principe lytique dans un échantillon d'eau après un seul enrichissement; des enrichissements répétés s'imposent.

La présence du phage anti-Coli et anti-dysentérique dans une source d'eau constitue un indice sûr que cette eau est polluée; on n'a jamais trouvé le bactériophage dans les eaux qui ne contenaient pas de colibacille. Le contenu en bactériophage et leur variété dans une eau peut servir comme indice pour pouvoir apprécier le degré de pollution. L'eau de rivière, par exemple, est d'autant plus riche en principe lytique qu'elle est plus souillée. D'autre part, la quantité de bactériophage diminue progressivement au cours des opérations de purification de l'eau; c'est le phage anti-typhique qui disparaît le premier.

TABLEAU X. — Le principe lytique dans l'eau d'alimentation de trois communes rurales.

Endroit et jour de la récolte	Situation épidémiologique de la localité	Numéro des puits	Nombre desgerme par cc.	Nombre des B. Coli par 1 litre	Bactériophage anti-Coli	Bactériophage anti-dysentérique	Bactériophage anti-typhique
Buc..., 15-III-1938.....	Paludisme. Pas de fièvre typhoïde au cours des deux dernières années.	1	270	40	—	—	—
		2	100	0	—	—	—
		3	2,9	0	—	—	—
		4	186	60	+++	—	—
		5	13.700	20	++	—	—
		6	546	40	—	+++	—
		7	313	0	—	—	—
		8	747	40	+++	—	—
		9	5.650	20	-	—	—
		10	100	20	+++	—	—
		11	152	0	—	—	—
		12	311	0	—	—	—
Corb..., 11-V-1938	Fièvre typhoïde entre 1936-1937	1	538	460	—	—	—
		2	790	263	—	—	—
		3	3.915	443	—	++	++
		4	4.820	300	+++	+++	++
		5	880	406	—	++	—
		6	44	280	++++	—	—
		7	456	100	+++	—	—
Rac..., 21-VI-1938	Au cours d'une épidémie de fièvre typhoïde.	1	69		—	-	—
		2	150	2.800	++++	+++	—
		3	569	2.600	++++	- -	—
		4	100	280	+++	—	++
		5	4.920	24.000	+++	—	++
		6	82	280	—	—	—
		7	86		—	—	—
		8	340	6.400	—	—	—
		9	778	46.000	+++	—	—
		10	168	2.620	+++	—	—
		11	100	2.800	+++	—	—
		12	5.600	6.200	—	—	—

En ce qui concerne la présence des phages spécifiques dans une source d'eau, et plus particulièrement le bactériophage anti-typhique, nous constatons sa présence dans les eaux des localités contaminées par la fièvre typhoïde ; il manque dans les eaux d'alimentation des localités indemnes. La présence du bactériophage anti-typhique dans une source d'eau peut indiquer l'existence d'une épidémie de fièvre typhoïde dans la région, ou bien celle de porteurs de germes.

On ne peut pas attribuer une importance épidémiologique particulière à la présence du bactériophage anti-dysentérique dans les eaux, étant donnée sa fréquence dans l'intestin des individus bien portants. J. Bordet et M. Ciuca ont obtenu expérimentalement — par inoculation dans le péritoine des cobayes de suspensions de B. Coli — un principe lytique très actif vis-à-vis du C. Coli, ainsi que vis-à-vis du Shiga et du Flexner.

Le meilleur critérium pour apprécier la potabilité d'une source d'eau est, bien entendu, la situation épidémiologique locale. Les relations entre la présence du bactériophage dans l'eau et la situation épidémiologique de la localité sont telles qu'on ne peut pas négliger l'importance de cette méthode d'investigation.

Tandis que la colimétrie nous indique la possibilité de contamination d'une source d'eau, la présence du bactériophage anti-typhique démontre que le bacile typhique a été présent dans cette eau. La preuve la plus évidente serait certainement l'isolement du bacille typhique même. A ce propos, nous tenons à rappeler les résultats souvent contradictoires obtenus par différents auteurs, ce qui démontre l'imperfection de cette méthode. A l'état actuel de nos connaissances, la méthode d'isolement du bacille typhique de l'eau ne constitue pas un moyen sûr et rapide d'examen.

Nous estimons que la recherche du principe lytique dans l'eau est en mesure d'apporter de réels services quant au dépistage des sources d'eau qui constitueraient le point de départ et d'expansion des épidémies d'origine hydrique.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADAMS (B.-A.): « Bacteriophage in water. » (*M. Officier*, 40, 15, 1928.)
2. APPELMANS (R.): « Le dosage du bactériophage. » (*C. R. Soc. Biol.*, 85, 1098, 1921.)
3. ID.: « Quelques applications de la méthode de dosage. » (*C. R. Soc. Biol.*, 86, 508, 1922).
4. APPELMANS (R.) et WAGEMANNS (J.): « Bactériophage de diverses provenances. » (*C. R. Soc. Biol.*, 86, 508, 1932.)
5. ARAUJO (E. DE): « Nota preliminar sobre a existencia do bacteriophago em aquas da Bahia. » (*Sciencia med.*, 7, 439, 1929.)
6. ARLOING (F.) et CHAVANNE: « Propriétés empêchantes des eaux de l'Isère à l'égard de diverses cultures microbiennes. » (*C. R. Soc. Biol.*, 92, 257, 1925.)
7. ARLOING (F.) et SEMPÉ: « Recherches sur la lyse microbienne avec des eaux d'Extrême-Orient. » (*C. R. Soc. Biol.*, 94, 428, 1926.)
8. ASSUNCAO (L. DE) et RODOVALHO (O.): « O bacteriophago nas aquas dos rios e reservatorios do abastecimiento publico da cidade de São Paulo. » (*Rev. Assoc. paulista de med.*, 3, 311, 1933.)
9. BECKERICH (A.) et HAUDUROY (P.): « Au sujet du titrage du bactériophage. » (*C. R. Soc. Biol.*, 86, 165, 1922.)
10. BECKWITH (T.-D.) et ROSE (E.-J.): « Bacteriophage content of sewage and its action upon bacterial organims. » (*J. Bact.*, 20, 151, 1930.)
11. BORDET (J.) et CIUCA (M.): « Exsudats leucocytaires et autolyse microbienne transmissible. » (*C. R. Soc. Biol.*, 83, 1293, 1920.)
12. ID.: « Sur la théorie du virus dans la lyse microbienne transmissible et les conditions de régénération du principe actif. » (*C. R. Soc. Biol.*, 86, 295, 1922.)
13. BUJANOWSKI (D.): « Der Bakteriophage im Wasser des Donflusses. » (*Zentralblatt f. Bakt. Orig.*, 110, 120, 1929.)
14. ID.: Der Bakteriophage in den Abwässern. » (*Arch. f. Hyg.*, 101, 318, 1929.)
15. ID.: « Bacteriophage of Don River Russia. » (*Hig. i epidemiol.*, 7, 20, 1928.)
16. CALDWELL (J.-A.): « Sewage filtrate as source of bacteriophage. » (*J. Infect. Dis.*, 40, 575, 1927.)
17. CALISTI (E.): « De la présence du bactériophage dans les eaux potables (note préventive). » (*Soc. internaz. dimicrobiol. Boll. d. sez. ital.*, 3, 352, 1931.)
18. CIUCA (M.): « Présence de principe lytique pour le bacille de Shiga et le colibacille dans les selles des cholériques. » (*C. R. Soc. Biol.*, 88, 143, 1923.)
19. CIUCA (M.) et COCIOBA (I.): «Valoarea epidemiologică a decelării bactriofagului în apă. » (*Al II-lea Congres National de Boale Contagioase, Chisinău*, octobre 1937.)
20. CIUCA (M.) et PETROVANU (E.): « Sur quelques particularités du « principe lytique d'origine intestinale. » (*C. R. Soc. Biol.*, 88, 922, 1923.)
21. COCIOBA (I.): « Prezenta bacteriofagului (principiul litic) în ape. Valoarea acestuia pentru aprecierea gradului de poluare al apelor. » (*Teza de doctorat*, 22 octobre 1937. Tiparul Românesc, Bucureşti.)

22. COUTURE (E.): « Sur la valeur de la présence d'un principe bactériophage dans les eaux comme élément d'appréciation de leur qualité. » (*Rev. d'Hyg.*, 58, 371, 1936.)
23. DIENERT (F.): « De l'utilité de la recherche du bactériophage dans les eaux. » (*Bull. Acad. de Méd. Paris*, 112, 611, 1934.)
24. DIENERT (F.), ETRILLARD (P.) et LAMBERT (M.): « Sur la recherche du bactériophage dans les eaux. » (*C. R. Acad. des Sc.*, 199, 102, 1934.)
25. DUJARIC DE LA RIVIÈRE: « Floculation et bactériophage de d'Hérelle. » (*C. R. Soc. Biol.*, 93, 498, 1925.)
26. DUMAS (J.): « Sur la présence du bactériophage dans l'intestin sain, dans la terre et dans l'eau. » (*C. R. Soc. Biol.*, 83, 1314, 1920.)
27. FABRY (P.): « Le bactériophage de d'Hérelle dans les eaux alimentaires. » (*Rev. d'Hyg.*, 50, 667, 1928.)
28. FLU: « Der Bakteriophage und die Selbstreinigung des Wassers. » (*Zbl. f. Bakt.*, 59, 317, 1923.)
29. GILDEMEISTER (E.) et WATANABE (H.): « Untersuchungen über das Vorkommen von Bakteriophagen in Oberflächenwasser. » (*Gesundh. Ingenieur*, 55, 522, 1931.)
30. GOLDBERZANKA (J.) et SIERAKOWSKI (S.): « Presence of bacteriophage in water. » (*Med. Doswiadez i spot.*, 14, 837, 1932.)
31. GOLDIE (H.): « Sort des microbes pathogènes dans les eaux d'égout. Etude du phénomène de bactériolyse. » (*Rev. d'Hyg.*, 55, 5, 1933.)
32. GONDO (I.): « Studien über die Bakteriophage im Wasser, Bakteriophagen aus Brunnenwasser. » (*Nagasaki Igakkwai Zassi*, 15, 540, 1937.)
33. GREMANS (G.): « Der Wasserbakteriophage als epidemiologischer Indikator. » (*Zbl. f. Mikrob. Epyd. u. Immun.*, 17, 586, 1936.)
34. HAUDUROY: « Recherches du bactériophage de d'Hérelle dans différents milieux. » (*C. R. Soc. Biol.*, 88, 1084, 1923.)
35. HÉRELLE (F. D'): *Le bactériophage et son comportement.* Masson, Paris, 1926.
36. LEMNOS MONTEIRO (I.): « Phenomeno de Twort-d'Herelle: sua importancia e consequencias scientificas, presenca do bacteriophago nas aquas dos rios de Sâo Paulo. » (*Ann. paulit. de med. e cirurg. S. Paulo*, 95, 301, 1926.)
37. ID.: « Présence du bactériophage dans l'eau des rivières de Sâo Paulo. » (*C. R. Soc. Biol.*, 95, 994, 1926.)
38. MANCCI (O.-C.): « La ricerca del bacteriofago in alcune acque minerali italiane di uso idropinico. » (*Riv. di idroclimat. talassol et terap. fir.*, 46, 193, 1935.)
39. MANOLIU et COSTIN: « Eaux polluées et lyse transmissible. » (*C. R. Soc. Biol.*, 93, 384, 1925.)
40. MAZZETTI (G.): « Osservazioni su di un ceppo di batteriofago isolato dalle acque luride di Siena. » (*Bol. d. Soc. ital. di biol. sper.*, 5, 605, 1930.)
41. NAITO RYOITI: « Ein neues Verfahren zum Nachweis der bakteriophagen Lysins. » (*Zbl. f. Bakt.*, 136, 152, 1936.)
42. NAKASHIMA (I.): « Beitrag zum Vorkommen und Verhalten des Bakteriophagen in Abwässern. » (*Zbl. f. Bakt. Orig.*, 1, 94, 1925.)
43. NYBERG (C.): « Über Nachweis und Gewinnung von Bakteriophagen. » (*Zbl. f. Bakt. Orig.*, 122, 279, 1931.)

44. NYCK (J.): « Über Bakteriophagenbefund im Abwasser und Vorfluter. » (*Zbl. f. Bakt. Orig.*, 136, 397, 1936).
45. OTTO (R.) et MUNTFR (H.): *Bakteriophagie in Handbuch der path. Mikr.* Urban u. Schwarzenberg, Berlin u. Wien, 1929.
46. PANAYOTATOU (A.): « Sur les recherches du bactériophage dans l'eau du Nil. » (*Bull. Acad. de Méd. Paris*, 114, 193, 1935.)
47. PREDTETCHEWSKI (S.-N.): « Contribution to study of river water bacteriophage. » (*Vestnik. mikr. epidemiol.*, 8, 260, 1929.)
48. RACHIUSA: « Il batteriofago in rapporto all'autosterilizzazione del terreno. » (*Ann. d'ig. Roma*, 33, 396, 1923.)
49. RENAUX (E.): « La présence de principes lytiques (bactériophage) dans une eau destinée à la consommation, est-elle de nature à la faire suspecter? » (*Bull. Acad. roy. de Méd. de Belgique*, 9, 432, 1929.)
50. SANGLIORGI (G.): « Considerazioni sulla diffusione e sull importanza in natura del *principio litico.* » (*Ann. d'Ig.*, 37, 94, 1927.)
51. SCHLOSSMANN (K.): « Über das Vorkommen von Bakteriophagen im Wasser. » (*Zschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 114, 65, 1932.)
52. SCHUURMAN (C.-J.): « Bakteriophagen im Tji-Siwung. » (*Zbl. f. Bakt.*, 1, 132, 321, 34.)
53. VADEDES et GILDEMEISTER: « Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis von Bakteriophagen in Wasserproben. » (*Zbl. f. Bakt. Orig.*, 1414, 1934.)
54. VIOLLE (H.): « Boues activées et principes bactériolytiques. » (*C. R. Soc. Biol.*, 108, 89, 1931.)
55. WAGEMANS: « La recherche des bactériophages dans la nature. » (*Arch. intern. de Pharmacod.*, 28, 181, 1923-1924.)
56. ZHUKOV-VEREJHNIKOV (N.-N.) et KOSYAKOV (P.-N.): « Bacteriophage of Moscow water surces. » (*Vestnik. mikr. epidemiol. i. parazitol.*, 12, 17, 1933.)

WERTBEMESSUNG DER ANTITOXISCHEN DYSENTERIE- (SHIGA-KRUSE) SERA MIT HILFE DER STANDARD-METHODE AM TIERE IN IHRER BEZIEHUNG ZUM ERST-FLOCKENDEN GEMISCH

von

DR. GH. ISTRATI

Aus dem «Institutul de Seruri și Vaccinuri Dr. I. Cantacuzino»
Director: Prof. Dr. C. Ionescu-Mihăiești

III. MITTEILUNG

Die Auswertung des antidysenterischen (anti-Shiga) Serums am Tiere ist in zahlreichen Arbeiten untersucht worden, die teils in den Berichten des Völkerbundes (1—11), teils in verschiedenen wissenschaftlichen Zeitschriften (12—23) erschienen sind.

Nach mehrjährigen Forschungen standardisierte man die Auswertung des antidysenterischen Serums folgendermassen:

Man wählte ein Standardserum, das 200 AE/ccm enthielt (es ist ein getrocknetes Serum, das durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung und Glyzerin auf 200 AE/ccm gebracht wurde).

Das dysenterische Toxin ist ein Pulver aus getrockneten Bazillenleibern (eines « S »-Stammes von Shiga-Kruse-Bazillen [1]), verrieben in einem Achatmörser, um ein möglichst feinverteiltes Pulver zu erzielen.

Die Testdosis des Toxins in physiologischer Kochsalzlösung 8,5°/$_{oo}$ aufgeschwemmt, ist so ausgewählt, dass sie mit 1AE gemischt, 33% der gespritzten Tiere tötet. Eine AE neutralisiert rund 10 tödliche Dosen.

[1]) Im Staatlich. Inst. exp. Ther. zu Frankfurt. a. M. wird ein aus 0 — Bazillen hergestelltes Bazillenleibergift (Dysg. 101) als Testoxin verwandt.

Um ein antidysenterisches Serum (oder Dysenterieantitoxin) auszuwerten, wird die Testdosis des Toxins mit fallenden Mengen des zu untersuchenden Serums gemischt. Die Gemische werden 45—60 Minuten bei 37°C bebrütet. Mit den verschiedenen Gemischen (Toxin-Antitoxin) werden dann möglichst viele Tiere (10—20 Mäuse) gespritzt. Dieselbe Testdosis des Toxins wird auch mit einigen Dosen des Standardserums gemischt, darunter auch der, die 1AE enthält, und mit der das Toxin vorher ausgewertet worden war.

So kann man die mit dem unbekannten Serum erzielten Ergebnisse, mit denen des Standardserums vergleichen und Schlüsse über die in einem ccm Serum enthaltenen antitoxischen Einheiten ziehen. Wenn man also für ein Gemisch von Toxin-Antitoxin 20 Mäuse verwendet, wird man für das Standardserum 80 Mäuse benötigen und für das auszuwertende Serum ungefähr 120 Mäuse. Das Ergebnis wird nur ein annäherndes sein, da die Differenz der Serummengen von einem zum anderen Gemisch zunächst 100% betragen muss. Folglich sind für die erste, nur ziemlich annähernde Auswertung im ganzen 200 Mäuse erforderlich. Im Falle man für jedes Gemisch nur 10 Mäuse verwendet, wird man für die erste Wertbemessung 100 Mäuse benötigen.

Zur genaueren Bestimmung des Titers wird eine zweite Auswertung notwendig sein, für die man abermals 100 Mäuse braucht. Folglich wird man für eine verhältnismässig befriedigende Auswertung eines antitoxischen Serums (bei Benützung von je 10 Mäusen für jedes Gemisch) 200 Mäuse benötigen.

Solche Auswertungen, die ungefähr 10 Mäuse pro Gemisch (Toxin + Antitoxin) erfordern, können jedoch kaum in irgend einem Institute, das antidysenterische Sera im Grossen herstellt, durchgeführt werden. Sie sind sehr kostspielig und es lassen sich kaum genügend Tiere beschaffen, wenn es sich darum handelt, im Laufe eines Jahres hunderte von Sera auszuwerten. In einer Reihe von vorausgehenden Arbeiten (24, 25, 26) haben wir versucht, die Wichtigkeit der Flockungsmethode für die Wertbemessung der Dysenterieantitoxine darzulegen. Wir kamen zu dem Ergebnis, dass diese durch die in vitro-Methode in befriedigender Weise ausgewertet worden können. Man muss nur gewisse Einzelheiten berücksichtigen, die wir in den oben erwähnten Arbeiten und ganz besonders in der « Zeitschrift für Immunitätsforschung »

(27) dargelegt haben. Wir zeigten, dass die Flockungsmethode in die tägliche Praxis der Wertbemessung der Dysenterieantitoxine Eingang finden müsste, besonders wenn man berücksichtigt, wie wenig genau die Standardmethode am Tiere ist, wenn nur eine geringe Anzahl von Mäusen benutzt wird. Dabei können sehr grosse Fehler unterlaufen. Andererseits ist die Benützung einer grossen Anzahl von Tieren für jedes Gemisch (Toxin-Antitoxin) sehr kostpielig und diese gewöhnlich kaum zu beschaffen.

In einer kurzen Mitteilung in « C. R. Soc. de Biol. » (28) haben wir gezeigt, dass, wenn man in eine Reihe von Röhrchen dieselbe Menge von Toxin XII (ein thermolabiles Toxin von Proteincharakter) einfüllt und fallende Mengen von Dysenterieantitoxin hinzufügt, es zu einer Flockung kommt, und das erstflockende Gemisch neutral ist. Die mit diesem Gemisch gespritzten Mäuse starben nicht. Dieses neutralisierte Gemisch enthielt 40AE. Wir konnten ferner nachweisen, dass, wenn in diesem Gemisch die Antitoxinmenge nur um 10% verringert wurde, alle gespritzten Mäuse starben.

In vorliegender Arbeit haben wir untersucht, ob sich auch andere Toxine wie das Toxin XII verhalten, und ob das erstflockende Gemisch immer neutral ist, wenn man mit anderen Dysenterieantitoxinen unter Beibehaltung desselben Toxins arbeitet. Wir versuchten auch klarzustellen, inwieweit wir uns des vom erstflockenden Gemisch gegebenen Hinweises bei der Auswertungsmethode am Tiere bedienen können.

Ist das erstflockende Gemisch neutral?

In den weiter unten beschriebenen Versuchen benutzten wir das Toxin XXXVII[1]) (ein thermolabiles Toxin von Proteincharakter) mit 51Lf/ccm und das Serum VIII (das Standarddysenterieantitoxin Bukarest). Letzteres enthält 1250 AE/ccm nach der Standardmethode am Tier und 927 AE/ccm nach der Flockungsmethode in Gegenwart des Toxines XXXVII.

In eine Reihe von Röhrchen wurde je eine Dosis Toxin und fallende Mengen des antidysenterischen Serums eingefüllt. Die Mengen wurden so gewählt (nach einer vorherigen Auswertung

(1) Das Toxin XXXVII ist ein Antolysat von Bazillen eines Shiga-Kruse Stammes « R », der den Kohlehydrat-Lipoidkomplex nicht aufbaut. Die Herstellung dieses Toxins sowie der anderen in dieser Arbeit verwendeten Toxine ist bereits früher von uns in derselben Zeitschrift veröffentlicht worden (26).

TABELLE 1 X 6 1/VII/1939

Mischungen Nr.	Antidysenterie-Serum Nr. VIII ccm.	Flüssige-Toxin Nr. XXXVII ccm.	Pufferlösung ccm.	Mischungen Nr. ccm.	Antidysenterie-Serum Nr. VIII ccm.	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Pufferlössung ccm.	
I	0,049	0,70	0,251	I	0,294	4,20	1,506	Diese zwei Mischungen haben zuerst geflockt.
II	0,044	0,70	0,256	II	0,264	4,20	1,536	
III	0,039	0,70	0,261	III	0,234	4,20	1,566	
IV	0,035	0,70	0,265	IV	0,210	4,20	1,590	
V	0,031	0,70	0,269	V	0,186	4,20	1,614	
VI	0,028	0,70	0,272	VI	0,168	4,20	1,632	
VII	0,025	0,70	0,275	VII	0,150	4,20	1,650	

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° C (in einem Wasserbad und ½ Stunde bei Zimmertemperatur. 1,0 i. v. für eine Maus; 4 Mäuse für jede Mischung (S. Tabelle 3).

TABELLE 2

	ccm.	ccm.	ccm.	ccm.	ccm.	ccm.	ccm.
Antidys. Serum Nr. VIII	0,049	0,044	0,039	0,035	0,031	0,028	0,025
Flüssiges Toxin XXXVII	0,700	0,700	0,700	0,700	0,700	0,700	0,700
Pufferlösung	0,251	0,256	0,261	0,265	0,269	0,272	0,275
Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7
In Wasserbad 50° C.							
Resultate nach 30′		+	+				
40′	++	+++	+++	++−			

Die Zahl der Kreuze (+) zeigt die Stärke der Flockung an.

des Serums), dass das erstflockende Gemisch ungefähr 40 AE enthielt (unter Zugrundlegung des nach der Flockungsmethode bestimmten Titers von 927 AE/ccm).

In den Röhrchen 2 und 3 zeigte sich die Flockung mit derselben Intensität.

In der folgenden Tabelle sieht man, dass nur die Gemische II—VII Mäusen eingespritzt wurden.

Aus ihr geht hervor, dass von den zwei gleichzeitig flockenden Gemischen nur das Gemisch II neutral war, da von den 4 damit gespritzten Mäusen alle am Leben blieben.

Man könnte daraus schliessen, dass in Bezug auf das Serum VIII die Serummenge (0,044 ccm), die das von uns in diesen Versuchen benutzte Toxin neutralisierte, sehr nahe (mit einem Maximum von + 5%) derjenigen ist, die im erstflockenden Gemisch enthalten sein müsste (das Mittel der in den Röhrchen II und III enthaltenen Serummengen betrug 0,0415 ccm).

Man darf nicht vergessen, dass wir nur mit 4 Tieren pro Gemisch (Toxin-Antitoxin) gearbeitet haben, und dass es sich hier, wegen der kleinen Anzahl von Tieren, um ein zufälliges Zusammentreffen handeln könnte. Dies scheint auch wahrscheinlich zu sein für den oben beschriebenen Versuch, wo eine Antitoxinverminderung um 10% in einem neutralen Gemisch mit 40AE/ccm (Toxin XII + Antitoxin) 100% der gespritzten Tiere tötete. Vielleicht beruhte dieses Zusammentreffen auf der Tatsache, dass die in diesem Versuch benutzten Tiere besonders empfindlich für das Dysenterietoxin waren. In allen anderen derartigen Versuchen, die wir noch anstellten, aber mit einem anderen Toxin, wiederholte sich dies nicht mehr.

Deshalb wiederholten wir den in den Tabellen 1, 2 und 3 angegebenen Versuch sechs Mal mit abgestuften Serummengen und einer gleichbleibenden Toxindosis.

Wir machten diese Versuche in verschiedenen zeitlichen Zwischenräumen, um zu sehen, ob sich irgendwelche Abweichungen in den Ergebnissen der verschiedenen Versuche feststellen liessen. Endlich untersuchten wir, welche Beziehungen zwischen dem erstflockenden und dem am Tiere als neutral befundenen Gemisch bestehen.

TABELLE 3

Maus Nr.	Maus Gewicht	Injektion iv. 1,0 ccm. Antidysenterieserum VIII ccm.	Injektion iv. 1,0 ccm. Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Beobachtungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Mischingen Nr.	Bemerkungen
1	16 gr.	0,044		O	sf	sf	P?	P?	P?	sf		
1	16 »	0,044	0.70	O	O	sf	sf	sf	sf	sf	II	
3	17 »	0,044		O	sf	P?	P?	P?	P?	P?		
4	17 »	0,044		O	O	O	O	O	O	O		Diese zwei Mischungen haben zuerst geflockt.
5	16 gr.	0,039		O	sf	P?	P?	P?	P	P		
6	17 »	0,039	0,70	O	O	sf	P	L	†		III	
7	17 »	0,039		sf	L	†						
8	16 »	0,039		O	sf	P	P	†				
9	16 gr.	0,035		O	O	L	†					
10	17 »	0,035	0,70	P?	P?	L	†					
11	17 »	0,035		O	O	P	L	L	P	P		
12	16 »	0,035		O	O	P?	P?	P	P	P?		
13	16 »	0,031		O	sf	P	L	†				
14	17 »	0,031	0,70	O	O	sf	P?	P?	sf	sf	V	
15	17 »	0,031		O	O	L	†					
16	16 »	0,031		O	O	L	L	L	P	P		
17	16 »	0,028		O	O	sf	P?	P	P?	P?		
18	17 »	0,028	0,70	O	O	L	†				VI	
19	17 »	0,028		O	†							
20	16 »	0,028		O	O	O	sf	P?	sf	sf		
21	16 gr.	0,025		sf	P?	†						
22	17 »	0,025	0.70	O	sf	L	†				VII	
23	17 »	0,025		O	L	†						
24	16 »	0,025		O	sf	L	†					

O = ohne Erscheinungen sf = schwerfällig P = Parese (Hinterbeine)
L = völlige Lähmung (Hinterbeine) † = tot.

TABELLE 4

Die Beziehung zwischen der ersten flockenden Mischung und der neutralen Mischung (Toxin-Antitoxin Shiga Kruse) in vivo. Antidysenterie Serum Nr. VIII und flüssiges Toxin Nr. XXXVII

Versuch v. 1 VII 1939				Versuch v. 11 VII 1939				Versuch v. 8 VIII 1939				Versuch vi 26 IX 1939				Versuch [illegible] v. 28 X 1939									
Injektion iv. 1,0 ccm.		Mischungen, die zuerst geflockt haben	†	Injektion iv. 1,0 ccm.		Mischungen, die zuerst geflockt haben	†	Injektion iv. 1,0 ccm.		Mischungen, die zuerst geflockt haben	†	Injektion iv. 1,0 ccm.		Mischungen, die zuerst geflockt haben	†	Injection iv. 1,0 ccm.		Mischungen, die zuerst geflockt haben	†	Injection iv. [illegible]		Mischungen, die [illegible]	[illegible]	[illegible]	Zusammen
Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.			Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.			Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.			Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.			Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.			[illegible] pro Maus ccm.	[illegible] pro Maus ccm.			[illegible] ccm.	
–	–		—	—	—		–	—	—		—	0,073	0,70		0/4						-		—	0,073	0/4
—	—		—	—	—		—	0,069	0,70		0/4	—	—		—								—	0,069	0/4
—	—		—	—	—		—	—	—		—	0,061	0,70		0/4	—	-			0,061	0,70		-	0,061	0/8
—	—		—	0,055	0,70		0/4	0,055	0, 0		0/4	—	—		—	-	-			—	—		-	0,055	0/8
—	-		—	—	—		—	—	—		—	0,052	0,70		0/4	—				0,052	0,70		0/4	0,052	0/8
—	-		—	0,049	0,70		0/4	—	—		—	—	—		—		-			-	-		—	0,049	0/4
0,044	0,70	+	0	0,044	0,70	–	0/4	0,044	0, 0	+	0/4	0,044	0,70	+	0/4	0,044	0,70	-	1/8	0,044	0,70	-	0/4	0,044	7/28
0,039	0,70	+	3/4	0,039	0,70	–	2/4	—	—		—	—	—		—	—	-			—	—		-	0,039	5/8
—	—		—	—	—		—	—	—		—	0,037	0,70	±	1/4					0,037	0,70	±	2/4	0,037	3/8
0,035	0,70		2/4	0,035	0,70		2/4	0,035	0,70	±	0/4	—	—		—	—	–			—	—		—	0,035	4/12
—	—		—	—	—		—	—	—		—	—	—		—	0,033	0,70		3/8	—	-		—	0,033	3,8
0,031	0,70		2/4	0,031	0,70		1/4	—	—		—	0,031	0,70		0/4	-			-	0,031	0,70		1/4	0,031	4/16
0,028	0,70		2/4	0,028	0,70		2/4	0,028	0,70		2/4	—	—		—	—			—	—	—		-	0,026	6/12
—	—		—	—	—		—	—	—		—	0,026	0,70		4/4	0,026	0,70		3/8	0,026	0,70		0/4	0,026	7/16
0,025	0,70		4,4	0,025	0,70		2/4	—	—		—	—	—		—	—	—	—	-	—	—		-	0,025	6,8
—	-		—	-	-		—	-	-		—	-	-		-	-	—		-	0,026	0,70		4/4	0,022	4/4

\+ = deutliche Flockung.

± = kaumwahrnehmbare Flockung.

In nachfolgender Tabelle sind die Ergebnisse der sechs Versuche verzeichnet. Die Flockungsstärke der zuerst flockenden Gemische ist mit ± und + angegeben.

Aus der letzten Kolonne der Tabelle 4 geht hervor, dass 0,70 ccm des Toxins XXXVII fast vollständig durch 0,044 ccm des Serums VIII neutralisiert werden, da von den 28 gespritzten Mäusen nur eine starb. Diese Menge von 0,044 ccm ist um höchstens 5% grösser als die, die im erstflockenden Gemisch enthalten sein muss (0,0415 ccm).

Folglich kann man in Bezug auf das Serum VIII den Schluss ziehen, dass das erstflockende Gemisch neutral oder fast neutral ist. Betrachten wir den Versuch vom 8/VIII (Tabelle 4), wo die Serummengen in den aufeinanderfolgenden Röhrchen um 20% verschieden sind, so sehen wir, dass das erstflockende Gemisch neutral ist, dass aber auch das Gemisch, das um 20% weniger Serum enthält immer noch neutral ist, und erst das Gemisch (Toxin × Antitoxin), das um 40% weniger Serum enthält, anfängt toxisch zu sein. Man ersieht daraus, dass die Versuche mit Dysenterietoxinen, die an je 4 Mäusen pro Gemisch gemacht wurden, unregelmässige Ergebnisse geben können. Zum Beweis möchten wir den Versuch vom 1/VII (Tabelle 4) anführen, wo trotz einer grösseren Menge (0,039 ccm) Serums das Gemisch noch toxisch war, während am 8/VIII das Gemisch nicht toxisch war, obwohl es eine kleinere Menge (0,035 cc) Serums enthielt.

Betrachtet man die Versuche vom 1/VII und 21/XI 1939, so sieht man Folgendes: während im Versuche vom 1/VII 1939 das Gemisch (Toxin-Antitoxin), welches 0,025 ccm Serum enthält so toxisch ist, dass alle 4 gespritzten Mäuse starben, tötete das Gemisch vom 21/XI 1939, das 0,026 ccm Serum, also ungefähr dieselbe Menge Antitoxin enthielt, keine der 4 gespritzten Mäuse und die Gemische mit mehr Serum (0,031 ccm ja sogar 0,037 ccm) nur einige Mäuse.

R. Prigge und O. Hartoch haben in einer in « Arb. a. d. Staatsinst. für exp. Therapie » (23) erschienenen Arbeit gezeigt, dass erst wenn man 0,7 AE aus einem neutralen Gemisch, das 1AE enthält, entfernt, dieses Gemisch 100% der gespritzten Mäuse tötet, und nur wenn eine sehr grosse Anzahl von Mäusen benutzt wird man eine abgestufte Letalität der Tiere von 100% bis 0% beobachten kann. Andernfalls konnte man ähnliche Unregelmäs-

sigkeiten beobachten, wie in unserem oben erwähnten Versuche vom 21/XI 1939.

Folglich sind 4 Mäuse pro Gemisch (Dosis) in den Versuchen mit Dysenterietoxin ungenügend. In den Versuchen Prigge's enthielt das neutrale Gemisch 1AE. In unseren Versuchen, wo im neutralen Gemisch nicht 1AE sondern ungefähr 40AE enthalten waren, muss die Sache sich ebenso verhalten haben. Eine Verminderung um 10% Serum im neutralen Gemisch bedeutet einen Abzug von 4AE. Trotzdem starben uns 100% der Mäuse nur in einem einzigen Versuch mit dem Toxin XII (28).

Im Versuche vom 1/VII 1939 (Tabelle 4) mit dem Toxin XXXVII, nach Abzug aus dem neutralen Gemisch von 10% Serum starben 3 von 4 Mäusen. Nach Abzug von 20%, ja 30% der Serummenge starben sogar weniger Tiere, und nur nach Abzug von 45% Serum starben 100%. In einem anderen Falle jedoch nach Abzug selbst von 45% Serum (was einer Herabsetzung um 18AE entspricht) starb kein einziges Tier (Versuch v. 21/XI 1939, Tabelle 4).

Wenn wir also in der Standardmethode am Tier zur Austitrierung des antidysenterischen Serums eine viel grössere Toxinmenge benützen würden, als heute üblich (Toxinmenge die 1AE entspricht), und zwar eine Toxinmenge die 40AE entspricht, würde die Methode nicht verbessert werden, denn scheinbar bindet das Dysenterietoxin eine grössere Antitoxinmenge als das Toxoid.

Wahrscheinlich enthält das Toxin eine sehr grosse Menge von Toxoid, und nur wenn man aus dem neutralen Gemisch eine riesige Menge von Antitoxin entfernt, wird eine sicher tötliche Dosis in Freiheit gesetzt.

Man könnte annehmen, dass man in Ausnahmefällen ein an Toxoid armes Toxin gewinnt, wie im Falle des Toxins XII (5), wenn man es hier nicht zufällig mit Mäusen zu tun gehabt hat, die alle gleich empfindlich und zwar sehr empfindlich für das Dysenterietoxin waren.

Auf jeden Fall müsste untersucht werden, ob sich nicht ein reines Toxin herstellen lässt, das frei von Toxoid oder sehr arm an Toxoid ist. Gelänge dies, so wäre die Frage der Wertbemessung der antidysenterischen Sera am Tiere gelöst, insofern man für jedes Gemisch nur eine einzige Maus benützen könnte wie im Falle der Titerbestimmung der antitetanischen Sera. Man hat wohl

schon lange erwogen, ob die Auswertung der Dysenterieantitoxine nicht verbessert werden könnte, wenn man bei der Wertbemessung der antidysenterischen Sera mit einer Toxinmenge arbeitet, die einer grossen Anzahl von AE entspricht, und nicht mit der Menge, die nur 1AE entspricht, und so ausgewählt ist, dass sie eine 33 prozentige Sterblichkeit gibt. Selbst wenn dieser Versuch gemacht worden ist, hat man ihn doch nicht zur Wertbemessung der Dysenterieantitoxine verwerten können. Im Ausschuss für die Standardisierung des antidysenterischen Serums (1) im Jahre 1924 wies J. Cantacuzène darauf hin, dass wenn man annähme, dass eine antitoxische Einheit 10 D.L.M. neutralisiert, man grosse Schwierigkeiten haben würde, da die Neutralisierung einer so grossen Dosis Letalis grosse Fehler verursachen könnte. Deshalb schlug J. Cantacuzène vor, die antitoxische Einheit (AE) zu definieren (festzulegen) als die Serummenge, die notwendig ist, 5 sicher tödliche Dosen für eine Maus von 16—18 gr. zu neutralisieren (bei intravenöser Injektion). Im selben Ausschuss stellte Doerr fest, dass die mit D. C. L. erzielten Ergebnisse konstant, während mit 80 D. C. L. dieselben unregelmässig sind. Das, was die Benützung einer Toxintestdosis, die mehr als 10 D. C. L. enthielt, unmöglich machte, und im Jahre 1924 unbekannt war, kann man heute durch die Gegenwart des Kohlehydrat-Lipoidkomplexes im benutzten Toxin erklären.

Solange man eine Toxintestdosis, die weniger als 10 D. C. L. enthielt, benutzte, trat die schwache toxische Wirkung des Kohlehydrat-Lipoidkomplexes nicht in Erscheinung. Sobald man aber eine grössere Toxindosis verwendete, trat die toxische Wirkung des Komplexes in Erscheinung und tötete die Tiere trotz der grossen Menge von antidysenterischem Serum, das mit dem Toxin vermischt war. Die Arbeiten von Boivin und Mesrobeanu haben bewiesen, dass wenn man Pferde in besonderer Weise mit dem Kohlehydrat-Lipoidkomplex behandelt, man nur ein sehr schwaches gegen diesen Komplex gerichtetes antitoxisches Serum erhält. Im Laboratorium des Herrn Prof. Dr. Prigge im Staats-Institut für experimentelle Therapie (Frankfurt a/M). haben wir einen ähnlichen Versuch ausgeführt. Wir benutzen eine Toxintestdosis (gewonnen aus einem Shiga-Kruse Stamm « S »), die ungefähr 160 D. C. L. enthielt. Vermengt mit 20, 40, 80 und 160 AE konnte

diese Dosis nicht einmal durch 160 AE neutralisiert werden, obwohl 20 AE genügt hätten, wenn das Toxin den Kohlehydrat-Lipoid-komplex nicht enthalten hätte. Die obige Testdosis verursachte den Tod der Mäuse selbst nach halbstündigem Kochen, obwohl das thermolabile Toxin hätte zerstört sein sollen. Aus den im Bulletin des Völkerbundes erschienenen Mitteilungen ist zu ersehen, dass verschiedene Untersucher zur Herstellung des Dysenterietoxins einen « S » Shigastamm benutzten (9, 12), also unter den von uns oben beschriebenen Bedingungen gearbeitet haben.

Es fragt sich, ob bei Verwendung desselben Toxins XXXVII und verschiedener antidysenterischer Sera (anti Shiga-Kruse) dieselben Ergebnisse erzielt werden wie mit dem Serum VIII, also ob das erstflockende Gemisch neutral oder fast neutral ist.

In nachfolgender Tabelle findet man die Ergebnisse unserer Untersuchungen über das Verhalten von 9 antitoxischen Sera gegenüber dem Toxin XXXVII. Aus ihr ersieht man, welche Beziehungen zwischen der ersten flockenden Mischung oder den ersten flockenden Gemischen und dem für die Maus neutralen Gemisch bestehen.

Aus Tabelle 5 ersehen wir, dass für das antidysenterische Standardserum Frankfurt a/M. (das 1000 AE ccm enthält), wie für das Serum IX das in vivo neutrale Gemisch um 60—65% mehr Serum enthält, als die zuerst geflockte Mischung. Folglich enthält das erstflockende Röhrchen der Reihen, die mit dem Standardserum Frankfurt a/M. bzw. dem Serum IX beschickt sind, kein neutrales Gemisch, wie im Falle der Sera VIII und V (siene Tabelle 4 und 5). Die mit den Sera VI und XI hergestellten neutralen Gemische enthalten 40—50% mehr Serum, ale die Gemische die zuerst geflockt haben. Auch in Bezug auf die anderen 3 Sera (X, XII und XIII) zeigt sich nicht, dass das erstflockende Gemisch neutral ist; aber der Zusatz an Serum, um ein neutrales Gemisch zu erhalten, beträgt nur 10—20%, ist also viel geringer als für die ersten 4 Sera. Zusammenfassend kann man sagen: Wenn man das Verhalten eines Dysenterietoxins gegenüber mehreren antitoxischen Sera untersucht vom Stanpunkte des Toxin-Antitoxin Gemisches das zuerst geflockt hat, und des in vivo neutralen Gemisches, kann man feststellen, dass ungefähr bei 50% der

T A B E L L E 5

Mischungen Nr.	Standardserum Frankfurt a. Main 1000 AE ccm. (antiShiga-Kruse) Injektion iv. 1,0 ccm. Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.	Mischung die zuerst geflockt hat	†	Antidysenterieserum No. VIII (Standardserum Bukarest) Injektion iv. 1,0 ccm. Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.	Mischungen, die zuerst geflockt haben	†	Antidysenterieserum IX Injektion iv. 1,0 ccm. Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.	Mischungen, die zuerst geflockt hat	†	Antidysenterieserum No. X Injektion iv. 1,0 ccm. Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.	Mischungen, die zuerst geflockt haben	†	Antidysenterieserum No. XI Injektion iv. 1,0 ccm. Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.	Mischungen, die zuerst geflockt hat	†	Antidysenterieserum XII Injektion iv. 1,0 ccm. Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.	Mischungen, die zuerst geflockt hat	†	Antidysenterieserum [illegible] Injektion iv. 1,0 ccm. Serummenge pro Maus ccm.	Toxinmenge pro Maus ccm.	gen, die zuerst	†	[illegible] Injektion iv. 1,0 ccm. Serum- [illegible] ccm.	Toxin ccm.	gen. die zuerst	†	[illegible] Injektion iv. 1,0 ccm. Serum- ccm.	Toxin- ccm.	gen. die zuerst	†
I	0,060	0,70		0/4	0,055	0,70		0/4	0,100	0,70		0/4	0,135	0,70		0/4	0,240	0,70		0/4	0,082	0,70		0/4	0,200	0,70		0/4	0,280	0,70		0/4	0,050	0,70		0/4
II	0,055	0,70		0/4	0,049	0,70		0/4	0,080	0,70		0/4	0,110	0,70		0/4	0,200	0,70		0/4	0,070	0,70		0/4	0,165	0,70		0/4	0,244	0,70		0/4	0,042	0,70	+	0/4
III	0,050	0,70		2/4	0,044	0,70	–	0/4	0,064	0,70		0/4	0,088	0,70	±	0/4	0,165	0,70		0/4	0,060	0,70		0/4	0,140	0,70		0/4	0,212	0,70	±	0/4	0,036	0,70		1/4
IV	0,045	0,70		2/4	0,039	0,70	–	2/4	0,050	0,70		2/4	0,070	0,70	+	1/4	0,140	0,70		0/4	0,050	0,70	±	3/4	0,120	0,70		1/4	0,185	0,70		1/4	0,031	0,70		2/4
V	0,040	0,70		3/4	0,035	0,70		2/4	0,039	0,70	–	3/4	0,055	0,70		1/4	0,120	0,70		1/4	0,042	0,70		4/4	0,100	0,70	±	4/4	0,160	0,70		4/4	—			
VI	0,035	0,70	+	2/4	0,031	0,70		1/4	0,031	0,70		4/4	0,044	0,70		2/4	0,100	0,70	–	0/4	0,036	0,70		4/4	0,085	0,70	±	1,4	0,140	0,70		4/4	–			
VII	0,031	0,70		3/4	0,028	0,70		2/4	–	–		—	—			—	0,085	0,70		2/4	—	—		—	0,061	0,70		4/4	—	—						
VIII	0,028	0,70		4/4	0,025	0,70		2/4	–	–		–	–	–		–	–	–		–	–	–		–	–	–		–	–	–						
IX	0,025	0,70		4/4	—	—		—	—	–		–	–			–	–	–		–	–	–		–	–	–		–	–	–						
X	0,022	0,70		4/4	—	—		—	—	–		–	–			–		–		–	–	–		–	–	–		–	–	–		–	–			

+ = deutliche Flokung
± = kaum wahrnehmbarae Flockung

untersuchten antitoxischen Sera man eine um 10—20% grössere Serummenge dem erstflockenden Gemisch zusetzen muss, um ein in vivo neutrales Gemisch zu erhalten; bei den anderen 50% der Sera betrug dieser Zusatz sogar 40—60% Serum. Nur in seltenen Fällen ist das erstflockende Toxin-Antitoxingemisch ein in vivo neutrales Gemisch.

Das sind die Schlüsse, die wir aus der Untersuchung von 9 antitoxischen Sera ziehen konnten.

In einer früheren Arbeit (27) fassten wir in der Tabelle 40 die Ergebnisse zusammen, die wir bei der Austitrierung antidysenterischer Sera bei Benützung des Standardserums Frankfurt a/M. erzielten. Dieses Serum weist jedoch eine 60% Differenz auf zwischen der Menge im erstflockenden Gemisch und dem in vivo neutralen Gemisch auf. Dieser Umstand könnte vielleicht der Grund sein, dass die in Tabelle 47 untersuchten Sera mit Hilfe der Flockungsmethode einen niedrigeren Titer ergaben als mit Hilfe der Standardmethode an der Maus.

Für die Flockungsmethode müsste man folglich als Standard ein Serum verwenden, für das das erstflockende Gemisch in vitro dem neutralen Gemisch in vivo entspräche oder für das der Unterschied zwischen beiden Gemischen nur gering ist. Das Serum VIII (Standard Bukarest) hat mit Hilfe der Flockungsmethode 927 AE/ccm und nach der Standardmethode an der Maus 1250 AE/ccm. Diese Differenz an AE von -26,4 AE ccm mit der Flockungsmethode verglichen mit der Standardmethode, sind auch bedingt durch den Mengenunterschied des Standardserums Frankfurt a/M. im erstflockenden Gemisch und dem in vivo neutralen Gemisch. (Die Austitrierung des Serums VIII an der Maus wurde vergleichsweise mit dem Standardserum Frankfurt a/M. und dem Toxin XXXVII ausgeführt). Die grosse Differenz für das Standardserum Frankfurt a/M. bei Benutzung des Toxins XXXVII ist nicht gültig für alle Toxine. In einer in der Zeitschrift für Immunitätsforschung erschienenen Untersuchung (26) konnten wir dies in Tabelle X nachweissen bei Benützung des Toxins XIX. Was für das Standardserum Frankfurt in Bezug auf verschiedene Toxine gilt, wird auch für andere antitoxische Sera zutreffen, mit kleineren oder grösseren Differenzen im selben Sinne. Folglich ist auch die Möglichkeit gegeben, die Wertbestimmung

der Sera mit Hilfe der Flockungsmethode vorzunehmen mit einem nur geringen Unterschied gegenüber der Austitrierung am Tier (27).

In Tabelle 41 der vorhergehenden Arbeit (27) haben wir gezeigt, dass ausser in einigen Ausnahmefällen, die mit mehreren Toxinen ausgewerteten antidysenterischen Sera mit den verschiedenen Toxinen nur kleine Titerunterschiede aufweisen. Das Standardserum Frankfurt wurde mit dem pulverförmigen Toxin Nr. 4 (einem nach der Methode Boivin-Mesrobeanu gereinigten Toxin) gemischt. Die Menge war so ausgewählt, dass im ersten flockenden Gemisch 50 AE enthalten waren.

Tabelle 6 zeigt, wie die Gemische (Standardserum Frankfurt + Toxin) gemacht wurden, welches das erstflockende Röhrchen und ob das darin enthaltene Gemisch neutral oder nicht neutral für die Maus war.

Aus Tabelle 6 geht hervor, dass das erstflockende Gemisch nicht neutral ist, und dass auch ein Zusatz von 40% Serum dieses Gemisch nicht neutralisiert. Also dasselbe Verhalten wie beim Toxin XXXVII. Aus dem in Tabelle 6 angeführten Versuch kann man die Serummenge nicht feststellen, die das Gemisch neutral macht. Das Serum VIII wurde noch mit drei anderen Toxinen untersucht, und zwar dem pulverförmigen Toxin 4, dem pulverförmigen Toxin A und dem flüssigen Toxin XXXIX.

Aus Tabelle 7 geht hervor, dass das Gemisch mit dem pulverförmigen Toxin 4 im ersten flockenden Röhrchen, wie im Falle des Toxins XXXVII neutral ist, und das Gemisch neutral bleibt selbst nach Verringerung der im Gemisch enthaltenen Serummenge um 10%.

Tabelle 8 zeigt, dass das Gemisch im erstflockenden Röhrchen neutral ist, dass man aber die Serummenge um 50% verringern muss, damit das Gemisch eben anfängt toxisch zu werden. Also gerade ein entgegengesetztes Verhalten wie im Falle des Standardserums Frankfurt mit dem Toxin XXXVII oder dem pulverförmigen Toxin Nr. 4.

TABELLE 6

Maus Nr.	Maus Gewicht	Injektion iv. 0,75 ccm. Antidysenterie Standard Serum 1000 AE/cc. Verdün. 1/4=250AE/cc.	Injektion iv. 0,75 ccm. Pulvertoxin Nr. 45 mg./ccm.	Beobachtungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†	Mischungen Nr.	Bemerkungen
25	16 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	sf	sf	sf	†						
26	16 »		»	O	O	O	P	L	†				
27	16 »	70 AE	»	sf	sf	sf	sf	sf	†		5/6	I	
28	16 »	(0,28 ccm.)	»	O	O	P?	†						
29	17 »		»	O	O	sf	†						
30	17 »		»	O	O	O	sf	sf	sf	sf			
31	16 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	sf	sf	sf	sf	sf	†				
32	16 »		»	sf	sf	sf	†						
33	16 »	59 AE	»	O	O	O	sf	sf	sf	sf	3/6	II	
34	16 »	(0,236 ccm.)	»	O	O	O	sf	sf	P	†			
35	16 »		»	O	O	O	O	sf	P?	P?			
36	16 »		»	O	O	O	O	O	sf	sf			
37	16 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	sf	sf	P	P	P	L	†			Diese Mischung hat zuerst geflockt.
38	16 »		»	sf	sf	sf	sf	P	P	P			
39	16 »	50 AE	»	O	sf?	sf	sf	P?	P	P	1/6	III	
40	16 »	(0,20 ccm.)	»	O	O	O	sf	sf	P?	sf			
41	16 »		»	O	O	O	O	O	sf	sf			
42	16 »		»	O	O	O	O	O	O	O			
43	16 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	sf?	L	L	†						
44	16 »		»	O	sf	L	†						
45	16 »	42,5 AE	»	O	sf	P	†						
46	16 »	(0,17 ccm.)	»	O	sf	P?	†				5/6	IV	
47	17 »		»	O	O	sf?	sf	P?	P?	P?			
48	17 »		»	O	sf	L	†						
49	17 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	O	O	O	†						
50	17 »		»	O	P	L	†						
51	17 »	36 AE	»	sf?	L	†					6/6	V	
52	17 »	(0,14 ccm.)	»	sf	P	P	†						
53	18 »		»	O	sf	L	†						
54	16 »		»	P?	P	†							
55	17 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	†									
56	17 »		»	O	P?	†							
57	17 »	31 AE	»	O	L	†							
58	17 »	(0,124 ccm.)	»	O	P	†					6/6	VI	
59	16 »		»	sf	L	†							
60	18 »		»	P	L	†							

TABELLE 7

Maus Nr.	Gewicht	Injektion iv. 0,75 ccm. Antidysenterieserum No. VIII verdün $^1/_4$=312,5 AE ccm.	Pulvertoxin Nr. 4 5 mg/ccm.	Beobachtungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†	Mischungen Nr.	Bemerkungen
61	16 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	sf	sf	sf	sf	sf	sf	sf			
62	18 »	112,5 AE	»	O	O	O	sf	sf	sf	sf	0/4	I	
63	16 »	(0,36 ccm.)	»	sf	sf	sf	sf	sf	sf	sf			
64	18 »		»	sf	sf	sf	sf	sf	sf	sf			
65	16 gr.		0.35 ccm. = 1.75 mg.	sf	sf	sf	sf	sf	sf	sf			
66	18 »	100 AE	»	O	sf	sf	sf	sf	sf	sf	0/4	II	
67	18 »	(0,32 ccm.)	»	O	O	O	sf	sf	sf	sf			
68	16 »		»	O	O	O	sf?	sf	sf	sf			
69	16 gr.		0,35 ccm. = 1.75 mg.	sf	sf?	O	O	O	O	O			
70	17 »		»	O	O	sf?	sf?	sf?	sf	sf			
71	17 »	87,50 AE	»	O	O	sf	sf	sf	sf	sf	0/5	III	
72	18 »	(0,28 ccm.)	»	O	O	sf?	sf	sf	sf	sf			
73	18 »		»	O	O	O	O	O	O	O			
74	16 gr.		0,35 ccm. = 1.75 mg.	sf	sf	sf	sf	sf	sf	sf			
75	16 »		»	O	O	O	O	O	O	O			
76	17 »	78,09 AE	»	sf	sf	sf	sf	sf	sf	sf	0/5	IV	
77	18 »	(0,25 ccm.)	»	O	O	O	O	O	O	O			
78	18 »		»	O	O	O	O	O	O	O			
79	16 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	O	O	P	L	P	P	sf			Diese Mischung hat zuerst geflockt
80	16 »		»	O	O	sf	sf	sf	sf	sf			
81	16 »	68,75 AE	»	O	O	sf	sf	sf	sf	sf	0/5	V	
82	17 »	(0,22 ccm.)	»	sf	sf	sf	P?	P	P	sf			
83	17 »		»	O	O	sf	sf	sf	sf	sf			
84	16 gr.		0,35 ccm. = 1.75 mg.	O	O	O	O	O	O	O			
85	16 »		»	O	O	O	O	O	O	O			
86	17 »	62,5 AE	»	O	O	O	O	O	O	O	0/5	VI	
87	17 »	(0,20 ccm.)	»	O	O	O	O	O	O	O			
88	18 »		»	O	O	O	sf?	sf	sf	sf			
89	16 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	sf	sf	†							
90	16 »		»	sf	sf	P?	P?	P	P	P			
91	16 »	56,25 AE	»	O	O	sf	sf	sf	sf	sf	3/6	VII	
92	17 »	(0,18 ccm.)	»	O	O	P?	L	†					
93	17 »		»	O	O	P?	P	P	P	P			
94	18 »		»	O	O	sf	L	†					
95	16 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	O	O	sf	L	†					
96	16 »		»	O	O	P?	P	P	P	P			
97	18 »	50,0 AE	»	O	O	sf?	sf	sf	P?	P?	1/5	VIII	
98	18 »	(0,16 ccm.)	»	O	O	sf?	sf?	sf	sf	sf			
99	16 »		»	O	O	O	sf?	sf?	sf	sf			
100	18 gr.		0,35 ccm. = 1,75 mg.	O	O	P	L	†					
101	18 »	43,75 AE	»	O	O	sf?	sf	sf	sf	sf	2/4	IX	
102	16 »	(0,14 ccm.)	»	O	O	O	sf	P?	P?	P?			
103	16 »		»	sf	sf	sf	P?	†					

TABELLE 8

Maus Nr.	Gewicht	Injektion iv. 0,75 ccm. Antidysenterie-Serum No. VIII 1250 AE/ccm ccm	Pulvertoxin A 44 mg/ccm. ccm.	Beobastungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†	Mischungen Nr.	Beobachtungen
104	18 gr.	0,090	0,500	O	O	O	sf	sf	sf	sf			
105	18 »	0,090	0,500	O	O	O	O	O	O	O			
106	18 »	0,090	0,500	O	O	O	O	O	O	O	0/4	I	
107	17 »	0,090	0,500	O	sf?	sf	sf	sf	sf	sf			
108	17 gr.	0,081	0,500	sf?	sf?	sf	sf	sf	sf	sf			
109	17 »	0,081	0,500	O	O	O	O	O	O	O			
110	18 »	0,081	0,500	O	O	O	O	O	O	O	0/4	II	
111	18 »	0,081	0,500	O	O	O	O	O	O	O			
112	17 gr.	0,073	0,500	sf	sf	sf	sf	sf	sf	sf			
113	17 »	0,073	0,500	O	O	O	O	sf	sf	sf			
114	18 »	0,073	0,500	O	O	sf	sf	sf	sf	sf	0/4	III	
115	18 »	0,073	0,500	O	O	O	sf	sf	O	O			
116	16 gr.	0,066	0,500	O	sf	sf	sf	sf	sf	sf			
117	16 »	0,066	0,500	O	O	O	O	sf?	sf	sf			
118	16 »	0,066	0,500	O	O	O	O	O	O	O	0/4	IV	Diese Mischung hat zuerst geflockt
119	16 »	0,066	0,500	O	O	O	sf?	sf	sf	sf			
120	17 gr.	0,060	0,500	O	O	sf	P?	P	P?	P?			
121	17 »	0,060	0,500	O	O	O	O	O	O	O			
122	17 »	0,066	0,500	O	O	O	O	O	O	O	0/4	V	
123	17 »	0,060	0,500	O	O	sf	sf	sf	O	O			
124	16 gr.	0,054	0,500	O	O	O	sf	sf	sf	P?			
125	16 »	0,054	0,500	sf	O	O	sf	O	O	O			
126	16 »	0,054	0,500	O	O	O	sf	O	O	O	0/4	VI	
127	16 »	0,054	0,500	O	O	O	sf	O	O	O			
128	17 gr.	0,048	0,500	O	sf?	O	sf?	sf?	sf?	O			
129	17 »	0,048	0,500	O	O	O	O	O	O	O			
130	18 »	0,048	0,500	O	O	sf	sf	sf	sf	sf	0/4	VII	
131	18 »	0,048	0,500	O	O	O	O	O	O	O			
132	17 gr.	0,043	0,500	O	O	O	O	O	O	O			
133	17 »	0,043	0,500	O	O	O	O	O	O	O			
134	18 »	0,043	0,500	O	O	sf	sf	sf	sf	sf	0/4	VIII	
135	18 »	0,043	0,500	O	O	sf?	sf	sf	sf	sf			
136	17 gr.	0,038	0,500	sf?	sf	sf	sf	P	P	P?			
137	18 »	0,038	0,500	sf	sf	P	†						
138	17 »	0,038	0,500	O	sf	sf	sf	sf	sf	sf	1/4	IX	
139	18 »	0,038	0,500	O	O	O	O	O	O	O			

TABELLE 9

Versuch v. 24/VII/1939				Versuch v. 15/XII/1939				Serummenge pro Maus in 2 Versuche ccm.	Zusammen †
Antidysenterie-Serummenge pro Maus Serum Nr. VIII ccm.	Toxin menge pro Maus (Toxin XXXIX) ccm.	Mischungen die zuerst geflockt haben	†	Antidysenterie-Serum menge pro Maus Serum Nr. VIII ccm.	Toxin menge pro Maus (Toxin XXXIX) ccm.	Mischungen, die zuerst geflockt haben	†		
—	—		—	0,077	0,70		—	0,077	0/4
—	—		—	0,065	0,70		0/4	0,065	0/4
0,055	0,70		2/4	0,055	0,70		2/4	0,055	4/8
0,049	0,70		1/4	—	—		—	0,049	1/4
—	—		—	0,047	0,70	+	2/4	0,047	2/4
0,044	0,70	+	1/4	—	—		—	0,044	1/4
0,040	0,70	+	3/4	0,040	0,70	+	4/4	0,040	7/8
0,036	0,70		3/4	—	—		—	0,036	3/4
—	—		—	0,034	0,70		4/4	0,034	4/4
0,032	0,70		4/4	—	—		—	0,032	4/4
0,029	0,70		4/4	—	—		—	0,029	4/4

Aus Tabelle 9 ergibt sich folgende ziemlich wichtige Tatsache: Während das Serum VIII mit dem Toxin XXXVII, den pulverförmigen Toxinen Nr. 4 und A sich in der Weise verhielt, dass das Gemisch im erstflockenden Röhrchen ein neutrales oder fast neutrales war, ja sogar mit dem Toxin A das erstflockende Gemisch gerade anfing toxisch zu werden, wenn die Serummenge um 50% herabgesetzt wurde, zeigte das Serum VIII mit dem Toxin XXXIX genau dasselbe Verhalten wie das Standardserum Frankfurt in Verbindung mit dem Toxin XXXVII; das heisst im für die Maus neutralen Gemisch war die Serummenge um 55 Prozent grösser als im erstflockenden Gemisch. Aus Mangel an Tieren konnten wir nicht mehr untersuchen, wie sich die Gemische des Standardserums Frankfurt mit dem Toxin XXXIX verhalten. Dies wäre um so interessanter gewesen, da wir das Standardserum Bukarest mit dem Standardserum Frankfurt vergleichsweise an der Maus und in Verbindung mit dem Toxin XXXVII ausgewertet hatten. In unserer früheren Arbeit (27) wiesen wir in der Tabelle 42 daraufhin, dass Ipsen (Kopenhagen) gezeigt hatte, dass das deutsche Standardserum Ffm einen um 20% geringeren Titer als den wahren aufweist, wenn es mit dem internationalen Standardserum verglichen wird in Gegenwart von anderen Toxinen als dem Toxin Frankfurt a/M. Ferner, dass der Unterschied, den Ipsen mit einzelnen Präparaten (ohne einen Mittelwert zu berechnen) im Vergleich zum gegebenen Titer von 200 AE findet, viel grössere Schwankungen aufweist. Bei nächster Gelegenheit werden wir trachten festzustellen, wie sich das Standardserum Ffm in Verbindung mit dem Toxin XXXIX verhält, und welchen Titer das Serum VIII mit Hilfe der Standardmethode an der Maus zeigt, wenn man es mit dem Toxin XXXIX auswertet.

WERTBEMESSUNG DER ANTIDYSENTERISCHEN SERA (SHIGA-KRUSE) MIT HILFE DER STANDARDMETHODE AN DER MAUS IN BEZIEHUNG ZUM ERSTFLOCKENDEN GEMISCH

Da wir für die Wertbemessung der antidysenterischen Sera (Shiga Kruse) mit der Flockungsmethode ein Standardserum benötigten, haben wir das Serum VIII gewählt, das unter den vielen

TABELLE 10

Mischungen Nr.	Antidysenterie-Stand. Serum Frankfurt a. M. 1000 AE/ccm. ccm. pro Maus	Flüssiges-toxin Nr. XXXVII pro Maus ccm.	Pufferlösung ccm.	Mischungen Nr.	Antidysenterie-Stand. Serum Frankfurta. M. 1000 AE/ccm. ccm.	Flussigetoxin Nr. XXXVII ccm.	Pufferlösung ccm.	
I	0,060	0,70	0,240	I	0,420	4,9	1,680	
II	0,055	0,70	0,245	II	0,385	4,9	1,715	
III	0,050	0,70	0,250	III	0,350	4,9	1,750	
IV	0,045	0,70	0,255	IV	0,315	4,9	1,785	
V	0,040	0,70	0,260	V	0,280	4,9	1,820	Diese Mischung hist zuerst geflockt
VI	0,035	0,70	0,265	VI	0,245	4,9	1,855	
VII	0,031	0,70	0,269	VII	0,217	4,9	1,883	
VIII	0,028	0,70	0,272	VIII	0,196	4,9	1,904	
IX	0,025	0,70	0,275	IX	0,175	4,9	1,925	
X	0,022	0,70	0,278	X	0,154	4,9	1,946	

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° (in einem Wasserbad) und ½ Stunde bei Zimmertemperatur.

TABELLE 11

Maus Nr.	Maus Gewicht	Injektion iv. 1.0 ccm. Antidysenteriestand. serum Ffm. 1000 AE/ccm. ccm.	Injektion iv. 1.0 ccm. Flüssigestoxin Nr. XXXVII ccm.	Beobachtungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†	Durchschnittliche Todeszahl jeweils beider Mischungen †	Mischungen Nr.	Beobachtungen
140	16 gr.	0,060		O	O	O	O	O	O	O				
141	18 »	0,060	0,70	O	sf	sf	sf	sf	sf	sf	0/4		I	
142	17 »	0,060		O	O	O	O	O	O	O				
143	16 »	0,060		O	O	O	O	O	O	O		*0,0575* ccm. 0/8		
144	16 gr.	0,055		O	O	O	O	O	O	O				
145	16 »	0,055	0,70	O	O	O	sf	sf	sf	sf	0/4	»	II	0,0525 ccm.
146	17 »	0,055		sf	sf	O	O	O	O	O				
147	18 »	0,055		sf	sf	sf	sf	sf	sf	sf				
148	16 gr.	0,050		O	O	O	sf	sf	sf	sf				
149	16 »	0,050	0,70	sf	P	L	†				2/4		III	
150	16 »	0,050		sf	P	L	†							
151	17 »	0,050		sf	sf	sf	P?	P?	sf	sf		*0,0475* ccm. 4/8		
152	17 gr.	0,045		O	O	L	†							
153	17 »	0,045	0,70	O	O	O	sf?	sf?	sf?	sf	2/4		IV	
154	18 »	0,045		O	sf	L	†							
155	17 »	0,045		O	O	sf	sf	sf	sf	sf				
156	16 gr.	0,040		sf?	sf	L	†							
157	16 »	0,040	0,70	O	sf	P?	P	†			3/4		V	
158	17 »	0,040		O	sf	P	†							
159	17 »	0,040		O	O	O	O	O	O	O		0,0375 ccm. 5/8		
160	16 gr.	0,035		sf	P	L	L	†						
161	16 »	0,035	0,70	sf?	sf	P?	L	†			2/4		VI	Diese Mischung hat zuerst geflockt
162	16 »	0,035		O	sf?	sf	P	P	P?	P?				
163	16 »	0,035		O	O	O	sf	sf	sf	sf				
164	16 gr.	0,031		sf	P	P	†							
165	16 »	0,031	0,70	O	O	P	†				3/4		VII	
166	17 »	0,031		O	sf	P	†							
167	17 »	0,031		sf?	P?	P	P	P?	sf	sf		0,0295 ccm. 7/8		
168	17 gr.	0,028		P?	L	†								
169	17 »	0,028	0,70	O	P	L	†						VIII	
170	16 »	0,028		sf	L	†					4/4			
171	16 »	0,028		sf	L	†								
172	16 gr.	0,025		O	L	†								
173	16 »	0,025	0,70	O	L	†					4/4		IX	
174	17 »	0,025		O	L	†								
175	18 »	0,025		sf	L	†						0,0235 ccm. 8/8		
176	16 gr.	0,022		†										
177	16 »	0,022	0,70	sf	L	†					4/4		X	
178	17 »	0,022		P	†									
179	18 »	0,022		P	L	†								

von uns untersuchten antitoxischen Sera fast allein die Eigenschaft aufweist, dass sein erstflockendes Gemisch mit dem Toxin XXXVII ein fast neutrales ist. (Diese Eigenschaft des Serums VIII gilt, wie oben gezeigt für einige Toxine. aber nicht für alle, wie z. B. für das Toxin XXXIX). In den nachfolgenden Versuchen zeigen wir, wie die Wertbemessung des Serums VIII gegenüber dem Standardserum Frankfurt a/M. mit Hilfe der Standardmethode an der Maus ausgeführt wurde. Tabelle 10 zeigt wie die Gemische vom Standardserum Ffm Toxin XXXVII und Pufferlösung für eine Maus und 7 Mäuse hergestellt wurden. Endlich zeigt Tabelle 11 die Ergebnisse an den geimpften Mäusen bei einer 7-tägigen Beobachtungsdauer.

Mit jedem Gemisch (Toxin-Antitoxin) wurden 4 Mäuse gespritzt. Da die Zahl der Tiere etwas niedrig war, fassten wir die Ergebnisse als Mittelwerte von zwei aufeinanderfolgenden Gemischen zusammen, und die Resultate sind so gegeben, als ob mit jedem Gemisch je 8 Mäuse geimpft worden wären.

In den Tabellen 12 und 13 geben wir die Gemische vom Serum VIII und dem Toxin XXXVII an, sowie die Ergebnisse der an den Tieren ausgeführten Einspritzungen.

Ähnlich wie in Tabelle 11 sind auch hier die Resultate als Mittelwerte von zwei aufeinanderfolgenden Gemischen gruppiert. Der Titer des Serums VIII verglichen mit dem Standardserum Frankfurt a/M. wird gegeben unter Berücksichtigung des Gemisches, das 2 von 8 Tieren tötet.

Im Falle des Serums VIII werden 2 von 8 Mäusen durch das Gemisch getötet, das 0,0415 ccm Serum enthält. Was das Standardserum Frankfurt a/M. anbelangt, mussten wir das Mittel ziehen zwischen dem Gemisch, das kein Tier tötet und dem, das 4 von 8 Tieren tötet, nämlich 0,0525 ccm Standardserum.

Folglich enthalten 0,0415 ccm Serum VIII 52,5 AE. 1 ccm Serum enhält also 1267 AE oder abgerundet 1250 AE/ccm. Die Wertbemessung der antidysenterischen Sera (anti Shiga) mit Hilfe eines Autolysats von Dysenteriebazillen ist von Shiga vorgeschlagen worden. Das obige Beispiel betreffend die Wertbemessung des Serums VIII führen wir nicht an, um zu beweisen, dass man

TABELLE 12

Mischungen Nr.	Antidysenterie-Serum Nr. VIII pro Maus ccm.	Flüssiges-toxin Nr. XXXVII pro Maus ccm.	Pufferlösung ccm.	Mischungen Nr.	Antidysenterie-Serum Nr. VIII ccm.	Flüssigetoxin Nr. XXXVII ccm.	Pufferlösung ccm.	
I	0,055	0,70	0 245	I	0,385	4,90	1,715	
II	0 049	0 70	0,251	II	0,343	4,90	1,757	
III	0,044	0,70	0,256	III	0,308	4,90	1,792	Diese Mischungen haben zuerst geflockt.
IV	0,039	0,70	0,261	IV	0,273	4,90	1,827	
V	0,035	0,70	0,265	V	0,245	4,90	1,855	
VI	0,031	0,70	0,269	VI	0,217	4,90	1,883	
VII	0,028	0,70	0,272	VII	0,196	4,90	1,904	
VIII	0,025	0,70	0,275	VIII . . .	0.175	4,90	1,925	

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° (in einem Wasserbad) und ½ Stunde bei Zimmertemperatur.

TABELLE 13

Maus Nr.	Maus Gewicht	Injektion iv. 1,0 ccm. Antidysen tériserum No. VIII ccm	Injektion iv. 1,0 ccm. Flussiges-toxin ccm	Beobachtungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†	Durchschnittliche Todeszahl jeweils beider Mischungen †	Mischungen No.	Beobachtungen
180	17 gr.	0,055		0	0	P	L	L	P	P				
181	17 »	0,055	0,70	0	0	0	0	0	0	0	0/4		I	
182	16 »	0,055		0	0	0	sf	sf	sf	sf				
183	16 »	0,055		0	0	0	0	0	0	0		*0,052* ccm. 0/8		
184	17 gr.	0,049		0	0	0	sf	sf	sf	sf				
185	17 »	0,049	0,70	0	0	0	0	0	0	0	0/4		II	
186	16 »	0,049		0	0	0	0	0	0	0				
187	16 »	0,049		0	0	sf	sf	sf	sf	sf				
188	16 gr.	0,044		0	0	0	0	0	0	0				
189	16 »	0,044	0,70	0	0	0	0	0	0	0	0/4		III	Diese zwei Mischungen haben zuerst geflockt.
190	16 »	0,044		0	0	0	0	0	0	0				
191	16 »	0,044		0	0	0	0	0	0	0		*0,0415* ccm. 2/8		
192	16 gr.	0,039		sf	P?	P	†							
193	16 »	0,039	0,70	sf	sf	P?	P?	P?	P?	sf	2/4		IV	
194	18 »	0,039		sf	P?	P	L	L	†					
195	16 »	0,039		0	0	0	0	0	gm	gm				
196	16 gr	0,035		0	P	P	P	P	P	P				
197	17 »	0,035	0,70	sf?	P	L	†				2/4		V	
198	16 »	0,035		sf	sf	L	†							
199	16 »	0,035		0	0	0	0	0	0	0		*0,033* ccm. 3/8		
200	16 gr.	0,031		sf	P?	P?	P?	P?	P?	sf				
201	18 »	0,031	0,70	P?	P?	P	L	L	P	P?	1/4		VI	
202	16 »	0,031		0	0	0	0	0	0	0				
203	16 »	0,031		P?	P	L	†							
204	16 gr.	0,028		sf	sf	P?	P?	L	†					
205	16 »	0,028	0,70	0	sf	P?	P	L	†		2/4		VII	
206	16 »	0,028		0	0	P?	sf	sf	sf	sf				
207	16 »	0,028		0	0	sf?	sf?	sf?	sf	sf		*0,0265* ccm. 4/8		
208	16 gr.	0,025		0	sf	sf	sf	sf	sf	sf				
209	17 »	0,025	0,70	0	sf	P	P	†			2/6		VIII	
210	17 »	0,025		0	0	0	sf	sf	sf	sf				
211	18 »	0,025		sf?	sf	P?	P?	L	L	†				

die Auswertung der Dysenterieantitoxine mit Hilfe eines Autolysats von Shigabazillen durchführen kann, oder um die wohlbekannte Methode Shiga's zu kontrollieren, sondern um zu zeigen, dass man die Wertbemessung antidysenterischer Sera auch auf eine einfachere Weise ausführen kann, nämlich unter Berücksichtigung des erstflockenden Gemisches.

In den Tabellen 11 und 13 haben wir mehr Gemische benutzt, als nötig waren, in der Absicht die Wertbemessung so beweisend wie möglich zu gestalten. Für Serum VIII wären 6 Mischungen (also 24 Mäuse) genügend gewesen und für den Standard ebenfalls nur 6 Mischungen. Wir hätten folglich mit rund 50 Mäusen eine gute Auswertung (soweit dies an Mäusen möglich ist) durchführen können.

Im obigen Versuch konnten wir eine so geringe Zahl von Mäusen benutzen, weil wir aus früheren Untersuchungen wussten, ob die erstflockenden Gemische des Standardserums Frankfurt a/M. und des Serums VIII mit dem Toxin XXXVII neutral sind oder nicht.

Wir erwähnten bereits, dass das erstflockende Gemisch uns einen Anhaltspunkt gibt bei der Auswahl der den Mäusen eingespritzten Gemische.

Wir wählten die polyvalenten antidysenterischen Sera XI und XII, um sie an der Maus auszuwerten, unter Zugrundlegung des obigen Prinzips. Zuerst wurden die Sera XI und XII mit Hilfe der Flockungsmethode ausgewertet (siehe Tabelle 14 und 17). Dabei benutzten wir das Toxin XXXVII, um auch gleichzeitig die Serummenge im erstflockenden Gemisch zu bestimmen.

Da wir ein Volumen von je 1 ccm den Tieren einspritzen, und das in jedem Gemisch enthaltene Toxin konstant ist (0,7 ccm), haben wir die Serummenge die 0,7 ccm Toxin entspricht, berechnet im Verhältnis zur Serummenge, die im erstflockenden Gemisch enthalten ist. Für das Serum XI haben wir sogar etwas mehr Serum genommen. In der Tabelle 15 und 18 zeigen wir, wie wir die Gemische hergestellt haben, ausgehend von denen, die zuerst flockten, und die wir als Ausgangsgemische betrachten. Mit diesen Ausgangsgemischen haben wir je 4 Mäuse gespritzt. (Siehe Tabelle 16 und 19).

TABELLE 14

Antidys. polivalentserum Nr. XI	ccm. 1,00	ccm. 0,70	ccm. 0,50	ccm. 0,35	ccm. 0.25	ccm. 0,18	ccm. 0,12	ccm. 0,09	ccm. 0,065	ccm. 0,052
Flüssiges Toxin Nr. XXXVII	ccm. 1,0	ccm. 1,0	ccm. 1,0	ccm. 1,0	ccm. 1,0	ccm. 1,0	ccm. 1,0	ccm. 1,0	ccm. 1,0	ccm. 1,0
Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
In Wasserbad 50° C. . .										
Resultate nach:										
3 Stunden	—	—	—	—	—		+			
3 Std. 5′	—	—	—	—	—		++			
3 Std. 20′	—	—	—	-	—	+	+++			

TABELLE 15

X 5

Mischungen Nr.	Antidys. serum. Nr. XI ccm.	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Pufferlösung ccm.	Mischungen Nr.	Antidysenterie serum Nr. XI ccm.	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Pufferlösung ccm.
I	0,10	0,70	0,20	I	0,50	3,50	1,00

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° (in einem Wasserbad) und 1/2 Std. bei Zimmertemperatur.

TABELLE 16

Maus		Injektion iv. 1,0 ccm.		Beobachtungstage							†
Nr.	Gewicht	Antidy.-Serum Nr. XI ccm.	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	
212	16 gr.	0,10	0,70	C	O	O	O	O	O	O	2/4
213	16 »	0,10	0,70	O	O	O	O	O	O	O	
214	17 »	0,10	0,70	sf	sf	P	†				
215	16 »	0,10	0,70	O	sf †						

TABELLE 17

Antidys.-polivalent-Serum Nr. XII	ccm. 0,50	ccm. 0,35	ccm. 0,25	ccm. 0,18	ccm. 0,12	ccm. 0,09	ccm. 0,065	ccm. 0,052
Flüssiges Toxin Nr. XXXVII	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.
Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
In Wasserbad 50°C .								
Resultate nach 55′ .	—	—	—	—		+	+	
» » 60′ .	—	—	—	—		++	++	
1 Std. 10′	—	—	—	—	+	+++	+++	±
1 Std. 20′	—	—	—	—	+++	++++	++++	++

TABELLE 18 X 5

Mischungen Nr.	Antidysen.-Serum Nr. XII ccm	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm	Mischungen Nr.	Antidysen.-Serum Nr. XII ccm	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm
I	0,053	0,70	0,247	I	0,265	3,50	1,235

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° C (in einem Wasserbad) und 1/2 Std. bei Zimmertemperatur.

TABELLE 19

Maus		Injektion iv. 1,0 ccm.		Beobachtungstage							†
Nr.	Gewicht	Antidy.-Serum Nr. XII ccm.	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	1	2	3	4	5	6	7	
216	16 gr.	0,053	0,70	O	O	P	P	P	sf	sf	
217	16 »	0,053	0,70	O	O	L †					1/4
218	17 »	0,053	0,70	O	sf	L	P	P	P	P	
219	18 »	0,053	0,70	O	O	O	O	P	P	sf	

Aus Tabelle 16 ersehen wir, dass von 4 Mäusen, die mit dem Ausgangsgemisch des Serums XI behandelt wurden, 2 starben; aus Tabelle 19, das nur eine von 4 Mäusen starb, und eine Maus die paralytische Störungen hatte, wieder genas. Wir können daraus schliessen, dass diese Ausgangsgemische auf keinen Fall neutral sind. Für die endgültige Auswertung im Vergleich zum Standardserum müssten wir also die Mischungen (Toxin-Antitoxin) so herstellen, dass 1 bis höchstens 2 Gemische weniger Serum und 3—4 mehr Serum enthalten, als das Ausgangsgemisch. In unserm Falle haben wir die Serummengen so gewählt, dass sie von Gemisch zu Gemisch (Toxin+Antitoxin) einen Unterschied von 15% aufweisen.

TABELLE 20

Mischung. Nr.	Antidys.-Std. Serum Bukarest (VIII) 1250 AE/ccm ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm	Miscung. Nr.	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Antidys.-Std. Serum Bukarest (VIII) 1250 AE/ccm ccm	Pufferlösung ccm	
I	0,073	0,70	0,227	I	0,438	4,20	1,362	
II	0,061	0,70	0,239	II	0,366	4,20	1,434	
III	0,052	0,70	0,248	III	0,312	4,20	1,488	
IV	0,044	0,70	0,256	IV	0,264	4,20	1,536	{ Diese Mischung hat zuerst geflockt.
V	0,037	0,70	0,263	V	0,222	4,20	1,578	
VI	0,031	0,70	0,269	VI	0,186	4,20	1,614	
VII	0,026	0,70	0,274	VII	0,156	4,20	1,644	

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° C (in einem Wasserbad) und 1/2 Std. bei Zimmertemperatur.

TABELLE 21

Maus Nr.	Gewicht	Injektion iv: 1,0 ccm. Autidys Staud. Serum Bukarest VIII 1250 AE/ccm ccm.	Injektion iv: 1,0 ccm. Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Beobachtungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†	Durchschnittliche Todeszahl jeweils beider Mischungen †	Mischungen Nr.	Beobachtungen
220	16 gr.	0,073		O	O	O	O	O	O	O				
221	16 »	0,073	0,70	O	O	O	sf	sf	sf	sf	0/4	0/4	I	
222	17 »	0,073		O	sf	P?	P?	sf	sf	sf				
223	18 »	0,073		O	O	sf	sf	sf	sf	sf				
224	16 gr.	0,061		O	O	O	O	O	O	O				
225	16 »	0,061	0,70	O	O	O	O	O	O	O	0/4		II	
226	17 »	0,061		O	O	O	O	O	O	O				
227	18 »	0,061		O	O	O	O	O	O	O		*0,0565* ccm. 0/8		
228	16 gr.	0,052		O	O	O	O	O	O	O				
229	16 »	0,052	0,70	O	O	O	O	O	O	O	0/4		III	
230	17 »	0,052		O	O	O	O	O	O	O				
231	16 »	0,052		O	O	O	O	O	O	O				
232	16 »	0,044		O	O	O	O	O	O	O				
233	16 »	0,044	0,70	O	O	O	O	O	O	O	0/4		IV	Diese Mischung hat zuerst geflockt.
234	17 »	0,044		O	sf	sf	sf	sf	sf	sf				
235	17 »	0.044		O	O	sf	sf	sf	sf	sf		*0,0405* ccm. 1/8		
236	16 »	0,037		O	O	sf	sf	sf	sf	sf				
237	17 »	0,037	0,70	O	O	O	O	O	O	O	1/4		V	
238	18 »	0,037		O	sf?	sf?	sf?	sf	sf	sf				
239	16 »	0,037		O	sf	†						*0,0345* ccm.		
240	16 gr.	0,031		O	sf?	sf	sf	sf	sf	sf				
241	16 »	0,031	0,70	O	O	O	O	O	O	O	0/4		VI	
242	17 »	0,031		O	O	sf	sf	sf	sf	sf				
243	18 »	0,031		O	O	O	O	O	O	O		*0,0285* ccm. 4/8		
244	16 gr.	0,026		O	sf	†								
245	16 »	0,026	0,70	O	P	P	L	†			4/4		VII	
246	17 »	0,026		O	sf	†								
247	18 »	0,026		O	O	sf	L	†						

In den Tabellen 20, 22 und 24 sind die Gemische verzeichnet als Ausdruck der mit den Ausgangsgemischen erzielten Ergebnisse (siehe Tabelle 13, 16 und 19).

In den Tabellen 21, 23 und 25 findet man die Ergebnisse der an den Mäusen (je 4 Mäuse pro Gemisch) vorgenommenen Einspritzungen mit den Mischungen aus den Tabellen 20, 22 und 24.

Aus den Tabellen 21, 23 und 25 geht hervor, dass wir die Resultate als Mittelwerte von zwei Gemischen verzeichnet haben. So haben wir die Letalität in Prozenten der mit den Sera XI und XII und dem Standardserum geimpften Tiere verglichen. Für das Standardserum wählten wir zum Vergleich eine Zwischendosis zwischen der, die 1 Tier von 8 (IV) und der, die 4 von 8 Tieren (V) tötet, nämlich 0,0345 ccm Serum. Diese Serumdosis enthält 43,12 AE und wird verglichen mit 0,0925 ccm Serum XI, die den Tod von 2 Tieren von 8 verursacht und 0,060 Serum XII (Wir nahmen 0,060 ccm vom Serum XII und nicht 0,065 ccm, das eigentliche Mittel zwischen 0,055 ccm und 0,076 ccm Serum, weil das Gemisch, das 0,060 ccm Serum enthält kein einziges Tier tötete und wir glaubten, dass 0,065 ccm vielleicht eine zu grosse Serumdosis sei).

Um den Titer der Sera XI und XII zu erhalten verfährt man folgendermassen: Wenn in 0,0925 ccm Serum XI 43,12 AE enthalten sind, so werden in 1 ccm Serum XI 466 AE enthalten sein.

TABELLE 22

Mischungen Nr.	Antidys. Serum Nr. XI ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm	Mischungen Nr.	Antidys. Serum Nr. XI ccm	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm	
I	0,240	0,70	0,060	I	1,440	4,20	0,360	
II	0,200	0,70	0,100	II	1,200	4,20	0,600	
III	0,165	0,70	0,135	III	0,990	4,20	0,810	
IV	0,140	0,70	0,160	IV	0,840	4,20	0,960	
V	0,120	0,70	0,180	V	0,720	4,20	1,080	
VI	0,100	0,70	0,200	VI	0,600	4,20	1,200	Diese Mischung hat zuerst geflockt
VII	0,085	0,70	0,215	VII	0,510	4,20	1,290	

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° C (in einem Wasserbad) und ½ Std. bei Zimmertemperatur.

TABELLE 23

Maus Nr.	Maus Gewicht	Injektion iv. 1,0 ccm: Antidys. Serum Nr. XI ccm.	Injektion iv. 1,0 ccm: Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Beobachtungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†	Durchschnittliche Todeszahl jeweils beider Mischungen †	Mischungen Nr.	Beobachtungen
248	16 gr.	0,240	0,70	sf?	sf?	sf	sf	O	O	O				
249	17 »	0,240	0,70	O	O	sf	sf	O	O	O	0/4	0/4	I	
250	17 »	0,240		O	O	O	O	O	O	O				
251	18 »	0,240		O	O	sf	sf	O	O	O				
252	16 gr.	0,200		O	O	O	O	O	O	O				
253	18 »	0,200	0,70	O	sf?	sf	sf	sf	sf	sf	0/4		II	
254	17 »	0,200		O	sf?	sf	sf	sf	sf	sf				
255	17 »	0,200		O	O	O	O	O	O	O		*0,1825* ccm. 0/8		
256	16 »	0,165		O	O	O	O	O	O	O				
257	17 »	0,165	0,70	O	O	O	O	O	O	O	0/4		III	
258	18 »	0,165		O	O	O	O	O	O	O				
259	18 »	0,165		O	O	O	O	sf	sf	sf				
260	16 gr.	0,140		O	O	sf	sf	sf	O	O				
261	16 »	0,140	0,70	O	O	sf	sf	sf	O	O	0/4		IV	
262	17 »	0,140		O	O	O	O	O	O	O				
263	18 »	0,140		O	O	sf	sf	O	O	O		*0,130* ccm. 1/8		
264	16 »	0,120		O	sf	sf	O	O	O					
265	16 gr.	0,120		sf	sf	sf	sf	O	O	O	1/4		V	
266	17 »	0,120	0,70	O?	O?	O	O	sf	sf	sf				
267	18 »	0,120		sf?	sf?	P	P	L	†					
268	16 gr.	0,100		sf	sf	sf	O	O	O	O				
269	16 »	0,100	0,70	O	O	sf	sf	O	O	O	0/4		VI	Diese Mischung hat zuerst geflockt
270	17 »	0,100		O	O	P	L?	L	P	sf				
271	18 »	0,100		O	O	sf	sf	O	O	O		*0,0925* ccm. 2/8		
272	16 gr.	0,085		O	O	O	sf	sf	sf	sf				
273	16 »	0,085	0,70	sf?	sf	sf	sf	sf	sf	sf	2/4		VII	
274	17 »	0,085		O	sf	sf	L	L	†					
275	18 »	0,085		sf?	P?	P?	L	†						

TABELLE 24 X 6.

Mischungen Nr.	Antidysen.-serum No. XII ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm	Mischungen Nr.	Antidysen.-serum No. XII ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm
I	0,082	0,70	0,218	I	0,492	4,20	1,308
II	0,070	0,70	0,230	II	0,420	4,20	1,380
III	0,060	0,70	0,240	III	0,360	4,20	1,440
IV	0,050	0,70	0,250	IV	0,300	4,20	1,500
V	0,042	0,70	0,258	V	0,252	4,20	1,548
VI	0,036	0,70	0,264	VI	0,216	4,20	1,584

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° C (in einem Wasserbad) und ½ Std. bei Zimmertemperatur.

In 0,060 ccm des Serums XII sind 43,12 AE enthalten, folglich werden in 1 ccm 718 AE enthalten sein (hätten wir statt 0,060 ccm Serum XII eine grössere Dosis beispielsweise 0,065 ccm genommen, so hätten wir dem Serum XII einen Titer von 663 AE ccm gegeben, also um 8% mehr).

In den von uns ausgeführten Auswertungen hätten wir statt 4 Mäusen 8 Mäuse benutzen können, und die Serumdifferenz hätte 25% statt 15% betragen. Tatsächlich hatten wir durch die Gruppierung je zweier nebeneinander liegender Gemische eine Differenz von 30% von Gemisch zu Gemisch. Natürlich, bei Benützung von noch kleineren Serumdifferenzen (z. B. um 15%) zwischen zwei Gemischen, würden die Ergebnisse noch genauer sein. Dies wäre der Fall gewesen, wenn wir in der vorhergehenden Auswertung 8 statt 4 Mäuse mit jedem Gemisch gespritzt hätten.

Eine solche Auswertung wäre auch noch zu kostspielig, obwohl wir einen Hinweis durch das vorläufige Gemisch haben. Mit Hilfe der Flockungsmethode haben wir für des Serum VII einen Titer von 586 AE/ccm festgestellt (Tabelle 26). Dann berechneten wir wieviel Serum (0,061 ccm Serum XII) mit 0,7 ccm Toxin XXXVII gemischt werden muss, um dasselbe Verhältnis aufzuweisen wie das im erstflockenden Röhrchen (Röhrchen 5 der Tab. 26).

Tabelle 27 zeigt, wie die Gemische hergestellt wurden.

TABELLE 25

Maus Nr.	Maus Gewicht	Injektion iv. 1,0 ccm. Antidys. serum Nr. XII ccm.	Injektion iv. 1,0 ccm. Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Beobachtungstage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†	Durchschnittliche Todeszahl jeweils beider Mischungen †	Mischungen Nr.	Beobachtungen
276	16 gr.	0,082		O	sf	sf	sf	sf	sf	sf				
277	17 »	0,082	0,70	O	sf	sf	sf	sf	sf	sf	0/4		I	
278	16 »	0,082		O	O	O	O	O	O	O				
279	18 »	0,082		O	O	O	O	O	O	O				
												0,076 ccm. 0/8		
280	16 gr.	0,070		O	O	O	O	O	O	O				
281	16 »	0,070	0,70	O	O	O	O	O	O	O				
282	17 »	0,070		O	O	O	O	O	O	O	0/4		II	
283	18 »	0,070		O	sf	sf	sf	sf	sf	sf		*0,065* ccm.		
284	16 gr.	0,060		O	O	sf	sf	sf	sf	sf				
285	16 »	0,060	0,70	O	O	sf	sf	O	O	O				
286	17 »	0,060		O	O	sf	sf	sf	O	O	0/4		III	
287	18 »	0,060		O	O	O	O	O	O	O				
												0,055 ccm. 3/8		
288	16 gr.	0,050		O	P?	†								Diese Mischung hat zuerst geflockt.
289	16 »	0,050	0,70	O	O	sf	P	L	†		3/4		IV	
290	17 »	0,050		O	sf?	sf	L	†						
291	18 »	0,050		O	O	P?	P	P	sf	sf				
292	16 gr.	0,042		O	sf	L	†							
293	16 »	0,042	0,70	O	O	L	†				4/4		V	
294	16 »	0,042		O	O	P	L	†						
295	17 »	0,042		O	P	L	†							
												0,039 ccm. 8/8		
926	16 gr.	0,036		sf?	L	†					4/4			
297	16 »	0,036	0,70	O	O	L	†						VI	
298	16 »	0,036		O	L	†								
299	17 »	0,036		O	sf	P	L	†						

TABELLE 26

Antidys.-polivalent Serum Nr. VII	ccm. 0,135	ccm. 0,120	ccm. 0,108	ccm. 0,097	ccm. 0,087	ccm. 0,078	ccm. 0,070	ccm. 0,063	ccm. 0,057
Flüssiges Toxin Nr. XXXVII	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.	1 ccm.
Röhrchen Nr. Wasserbad 50° C Resultate nach.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2 Stunden. .					+	±			
2 Std. 5′ . .				+	++	+±			
2 Std. 15′ .			+	+++	+++	+++	+		

TABELLE 27 X 6.

Mischungen Nr.	Antidys.-Serum Nr. VII ccm.	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Pufferlösung ccm.	Mischungen Nr.	Antidys.-Serum Nr. VII ccm.	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Pufferlösung ccm.
I	0,061	0,70	0,239	I	0,366	4,20	1,434

TABELLE 28

Maus Nr.	Gewicht	Injection iv. 1,0 ccm. Antidys.-Serum Nr. VII ccm.	Flüssiges Toxin Nr. XXXVII ccm.	Beobachtungtage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	†
300	17 gr.	0,061	0,70	O	O	sf	L	†			
301	17 »	0,061	0,70	O	O	O	O	O	O	O	
302	16 »	0,061	0,70	O	P?	P	P	L	L	†	2/5
303	16 »	0,061	0,70	O	sf	sf	P?	P?	P?	P?	
304	16 »	0,061	0,70	O	O	sf	sf	sf	sf	sf	

Aus Tabelle 28 entnehmen wir, dass von den 5 gespritzten Mäusen nur 2 starben und 1 eine leichte Lähmung aufwies. Zur endgültigen Auswertung dieses Serums stellten wir 3 Gemische her. Eins mit dem in den Tabellen 27 und 28 vermerkten Serumquantum und andere zwei Gemische, von denen das eine um 25% weniger, das andere um 25% mehr Serum enthielt (siehe Tabelle 29).

TABELLE 29 X 9.

Mischungen Nr.	Antidys.-Serum No. VII ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm	Mischungen Nr.	Antidys.-Serum No. VII ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm
I	0,081	0,70	0,219	I	0,73	6,30	1,97
II	0,061	0,70	0,239	II	0,55	6,30	2,15
III	0,046	0,70	0,254	III	0,41	6,30	2,29

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° C (in einem Wasserbad) und 1/2 Std bei Zimmertemperatur.

TABELLE 30

Maus Nr.	Maus Gewicht	Injektion iv. 1,0 ccm. Antidysen.-Serum No. VII ccm	Injektion iv. 1,0 ccm. Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Beobachtungstage 1	2	3	4	5	6	7	†	Mischungen No.
305	18 gr.	0,081	0,70	sf	sf	sf	P?	P?	sf	sf		
306	18 »	0,081	0,70	O	O	O	sf	sf	O	O		
307	17 »	0,081	0,70	O	O	O	O	O	O	O		
308	17 »	0,081	0,70	O	sf	sf	sf	O	O	O		
309	17 »	0,081	0,70	sf	sf	P?	P?	sf	O	O	0/8	I
310	16 »	0,081	0,70	sf	sf	P?	L	P	sf	sf		
311	16 »	0,081	0,70	O	O	sf	sf	sf	O	O		
312	16 »	0,081	0,70	O	O	O	P?	P?	sf	sf		
313	18 gr.	0,061	0,70	O	P	†						
314	18 »	0,061	0,70	O	O	O	sf	sf	sf	sf		
315	17 »	0,061	0,70	O	sf	P	P	sf	sf	sf		
316	17 »	0,061	0,70	O	sf	P	L	L	P	P		
317	16 »	0,061	0,70	sf?	sf	sf	sf	sf	sf	sf	2/8	II
318	16 »	0,061	0,70	O	P?	P?	P	L	†			
319	16 »	0,061	0,70	O	O	O	O	O	O	O		
320	16 »	0,061	0,70	O	O	O	O	O	sf	sf		
321	17 »	0,046	0,70	O	sf	sf	sf	sf	sf	sf		
322	17 »	0,046	0,70	O	L	†						
323	17 »	0,046	0,70	O	sf	P	†					
324	17 »	0,046	0,70	O	sf	sf	O	O	O	O	4/8	III
325	17 »	0,046	0,70	P?	P?	P?	P	L	P	P?		
326	16 »	0,046	0,70	O	L	L	†					
327	16 »	0,046	0,70	O	P	P	P	P	P	P		
328	16 »	0,046	0,70	O	O	P	†					

In der Tabelle 31 haben wir die Gemische vom Standardserum mit 25% Unterschied hergestellt. Aus vorausgehenden Versuchen wussten wir, dass 0,70 ccm Toxin XXXVII von 0,044 ccm Standardserum neutralisiert wird. In unseren Gemischen betrug die grösste Serummenge 0,044 ccm.

TABELLE 31 X 9

Mischungen Nr.	Antidys.-Std. Serum Bukarest VIII 1250 AE/ccm ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm	Mischungen Nr.	Antidys.-Std. Serum Bukarest VIII 1250 AE/ccm ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	Pufferlösung ccm
I	0,044	0,70	0,256	I	0,396	6,30	2,294
II	0,033	0,70	0,267	II	0,297	6,30	2,403
III	0,026	0,70	0,274	III	0,234	6,30	2,466

Bindungszeit: 1 Stunde bei 50° C (in einem Wasserbad) und ½ Std. bei Zimmertemperatur.

In den Tabellen 30 und 32 findet man die Ergebnisse der Auswertung des Serums VII im Vergleich mit dem Standardserum. Wir sehen, dass das Gemisch aus 0,061 ccm Serum VII und 0,70 ccm Toxin XXXVII (IIes Gemisch in Tabelle 30) 2 von 8 Mäusen tötet. Die zwischen 0,044 ccm und 0,033 ccm liegende Dosis des Standardserums also 0,0385 Serum entspricht der Serumdosis, die mit dem Toxin XXXVII vermischt 2 von 8 Mäusen töten würde.

Folglich enthalten 0,061 ccm des Serums VII dieselbe Anzahl von AE wie die in 0,0385 des Standardserums enthaltene. Berücksichtigt man den Umstand, dass das Standardserum 1250 AE/ccm enthalten, so muss das Serum VII 788 AE/ccm enthalten.

Wenn in der vorläufigen Auswertung (Übersichtsauswertung) alle geimpften Tiere gestorben oder alle am Leben geblieben wären, so hätte man im ersten Falle grössere, im zweiten Falle kleinere Mengen des auszuwertenden Serums in den Gemischen benützen müssen. In beiden Fällen sollten sich die Serummengen von Gemisch zu Gemisch um 10 bis 15% unterscheiden, wenn man 4 Mäuse pro Gemisch verwendet, oder um 25%, wenn man deren 8 pro Gemisch benützt. In letzten Falle genügen 3—4 Gemische.

Die Versuchsauswertung, die wir in Verbindung mit dem erstflockenden Gemisch vornehmen, gestattet eine kleinere Anzahl von Toxin-Antitoxin Gemischen zur Auswertung der Dysenterieantisera zu verwenden. In Tabelle 4 zeigten wir, dass der grösste Unterschied zwischen der Serummenge im erstflockenden Gemisch und in der für Mäuse neutralen Mischung höchstens 65% beträgt. Wenn man also die Wirkung des erstflockenden Gemisches auf

TABELLE 32

Maus		Injektion iv. 1,0 ccm.		Beobachtungstage							†	Mischungen Nr.
Nr.	Gewicht	Antidys. Std. Serum Bukarest (VIII) 1250 AE/cc ccm	Flüssiges Toxin No. XXXVII ccm	1	2	3	4	5	6	7		
329	18 gr.	0,044	0,70	O.	sf?	P?	L	P	P	P?		
330	18 »	0,044	0,70	O	O	sf	P?	P?	sf	sf		
331	17 »	0,044	0,70	O	sf	sf	P?	P?	P?	sf		
332	17 »	0,044	0,70	O	O	O	sf	sf	O	O		
333	17 »	0,044	0,70	O	O	O	sf	sf	O	O	1/8	I
334	16 »	0,044	0,70	O	O	O	O	O	O	O		
335	16 »	0,044	0,70	O	O	O	O	O	O	O		
336	16 »	0,044	0,70	sf	sf	L	†				0,0385 ccm.	
337	18 »	0,333	0,70	sf?	sf	sf	P	L	†			
338	18 »	0,033	0,70	O	O	O	O	O	O	O		
339	17 »	0,033	0,70	O	O	P	L	L	L	L		
340	17 »	0,033	0,70	O	O	O	P	L	†			
341	16 »	0,033	0,70	O	O	O	O	O	O	O	3/8	II
342	16 »	0,033	0,70	O	O	O	O	O	O	O		
343	16 »	0,033	0,70	O	O	sf	P	P	sf	sf		
344	16 »	0,033	0,70	O	O	P	†					
345	18 gr.	0,026	0,70	O	sf	L	†					
346	18 »	0,026	0,70	O	O	P?	P	P	P	P?		
347	17 »	0,026	0,70	O	sf	L	†					
348	17 »	0,026	0,70	O	P	P	P	P	P	P?		
349	16 »	0,026	0,70	O	O	P?	P?	P?	P?	sf	3/8	III
350	16 »	0,026	0,70	O	O	sf	sf	sf	sf	sf		
351	16 »	0,026	0,70	O	sf	sf	sf	sf	sf	sf		
352	16 »	0,026	0,70	O	L	†						

die Tiere kennt, so lassen sich die Gemische (Toxin-Antitoxine) für die endgültige Auswertung der antidysenterischen Sera leicht herstellen. Wir sind überzeugt, dass zur Kontrolle der Flockungsmethode die Auswertung am Tiere sehr nützlich ist, besonders mit der von uns eingeführten Modifikation, nämlich die Wirkung des erstflockenden Gemisches auf die Maus zu berücksichtigen.

Auf diese Weise lässt sich eine Auswertung durchführen, die sich in sehr engen Grenzen um den wahren Titer bewegt, ohne dass eine nochmalige Auswertung und eine zu grosse Anzahl von Mäusen notwendig wäre.

Ideal wäre es für diese Auswertung an der Maus ein reines oder an Toxoid sehr armes Toxin zu finden, das die Auswertung nur an einer Maus pro Gemisch (Toxin-Antitoxin) gestatten würde, wie dies für das Tetanusantitoxin zutrifft. Vorläufig scheint es, dass das Dysenterietoxin sehr unbeständig ist und durch den Reinigungsprozess und durch das Altern, wie Prigge mit Hilfe der Flockungsreaktion (29) nachweisen konnte, sich sehr schnell und in grossem Masse in Toxoid umwandelt. Dies bedingt die Schwierig keitenin der Auswertung der Dysenterieantisera am Tiere.

Die grossen Schwierigkeiten, die uns entgegentreten bei der Auswertung der antitoxischen Dysenteriesera durch die Standardmethode am Tiere, bringt die Vorteile der Flockungsmethode, die wir in einer früheren Arbeit auseinandergesetzt haben, zur Geltung.

Um den Wert der Titration der antidysenterischen Sera durch die Flockungsmethode zu erkennen, war eine Auswertung dieser Sera am Tiere durchaus notwendig. Diese soll jedoch möglichst wenig Tiere beanspruchen und bei der ersten Auswertung einen Titer erzielen, der dem wahren möglichst nahe kommt.

Mit der von uns eingeführten Abänderung, die wir in vorliegender Arbeit darlegten, glauben wir gewissermassen, das uns gesteckte Ziel erreicht zu haben.

BIBLIOGRAFIE

1. « Commission pour la standardisation du sérum antidysentérique ». (Soc. des Nations, Organisation d'Hygiène C. H./S. S./2-ème Session P. V. 1).
2. K. SHIGA, H. KAWAMURA şi K. TSUCHIYA. (Soc. des Nations Organisation d'Hygiène C. 177 M. 49, 1924, III (C. H. 193).
3. K. SHIGA, H. KAWAMURA şi K. TSUCHIYA. (Soc. des Nations Organisation d'Hygiène C. 177 (a) M. 49 a 1924, III (C. H. 193).
4. DR. TH. MADSEN, după cercetările lui KAJ JENSEN. (Soc. des Nations Org. d'Hygiène C. H./S. S. 40, 1924).
5. R. DOERR. (Soc. des Nations Org. d'Hygiène C. H./S. S. 41, 1924).
6. C. IONESCU-MIHĂIEŞTI şi D. COMBIESCU. C. H. 483, 1926.
7. P. CONDREA. (Soc. des Nations Org. d'Hygiène C. H. 483, 1926).
8. « Raportul Comisiunii permanente de Standardizare ». C. H. 517, 1926.
9. H. H. DALE (Medical Research Council) C. H./S. S./55, 1927.
10. K. A. JENSEN. (B. Soc. des Nations C. H./S. S./51, 1927).
11. R. A. O'BRIEN. (B. Soc. des Nations C. H./S. S./52, 1928).
12. PERCIVAL HARTLEY et P. BRUCE WHITE. (B. Soc. des Nations C. H./C. P. S. B./19, 1934).
13. Raportul Comisiunii de standardizare a serului antidysenteric ». (Soc. des Nations Org. d'Hygiène C. H./S. S./57.
14. KOLLE W., HELLER O. u. DE MESTRAL V. « Die Wertbestimmung des Dysenterieserums. (Dtsch. Med. Woch. 1908, S. 809).
15. KOLLE W., HELLER O. u. DE MESTRAL V. « Beitrag zur Wertbestimung des antitoxischen Dysenterieserums ». (Arb. Instr. Inf. Krankh. Bern, 1908, H. 1, s. 1).
16. SACHS H. u. GEORGI W. « Zur Wertbestimmung des antitoxischen Dysenterieserums ». (Dtsch. Med. Woch. 1918, s. 610).
17. KOLLE W., SCHLOSBERGER H. u. PRIGGE. « Über Eigenschaften, Wirkungsart und Wertbestimmung des Dysenterieserums ». (Dtsch. Med. Woch. 1924, S. 1105—1108).
18. SUDMERSEN H. J. u. EAGLETON. « Standardisation of antidysenteriserum ». (Lancet 1921, II, p. 1109).
19. SUDMERSEN H. J., RUNGE B. F. u. O'BRIEN E. A. « Standardisation of Antidysentery (Shiga) serum ». (Brit. Journ. of exp. Path. Vol. 5, 1924, p. 100—104).
20. SCHLOSBERGER H. u. WICHMANN F. W. « Untersuchungen über die Bindungsverhältnisse von Dysenterietoxin und Dysenterieantitoxin ». (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 107, 1927, H. 3/4 s. 716).
21. BLAKE A. V. u. OKELL C. C. « Standardisation of antidysentery serum, effect of increased test dose of toxin on the accuracy of titration ». (Journ. of Path. and Bact. Vol. 32, 1929, p. 121).
22. SCHLOSBERGER H. u. HARTOCH. « Weitere Untersuchungen über die Wertbestimung des antitoxischen Dysenterieserums ». (Dtsche Med. Woch. 1925, Nr. 51, p. 1854).

23. R. Prigge u. O. Hartoch. « Arb. a. d. Staatsinstitut f. exp. Therapie », 1930, H. 23, p. 1—26.
24. Istrati G. (C. R. Soc. Biologie, 1938, t. 129, p. 399).
25. Gh. Istrati et A. Olaru. (Bulletin de l'Organisation d'Hygiène de la Société des Nations, 1938, vol. VII, No. 30, p. 932—941).
26. Istrati G. (Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 1938, Bd. 94, H. 3/4, S. 264—80).
27. Istrati Gh. u. Olaru. (Zeitschr. f. Immunitätsforschung B. Heft. 1941).
28. Istrati Gh. (C. R. Soc. Biologie, 1938, t. 129, p. 1013).
29. Prigge R. (Zentralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionsk. 1939, 187 Originale, Bd. 144, H. 4/5).

TABLE DES MATIÈRES

(Tome 11. — 1938—1941)

Page

La vaccination antituberculeuse par le B.C.G. en Roumanie. Dix années de vaccination à Bucarest, par C. IONESCO-MIHAIESTI, M. CIUCA, M. NASTA, T. VEBER, avec la collaboration des docteurs ATHANASIU, BAISOIU, BLECHMANN, CERCHEZ, DUMITRESCU, PAPAZOL, PATROIANU, TUNARU et M-lle NOTARU 5

Contribution à l'étude des lésions histopathologiques dans l'infection expérimentale du M. Rhesus au Pl. Knowlesi, par A. TUPA et M. CIUCA, avec la collaboration de G. BADENSKI et P. IONESCU 39

Contribution à l'étude du Pl. Falciparum (Observations sur une souche de parasite qui a subi de nombreux passages), par M. CIUCA, L. BALLIF, M. CHELARESCO et N. LAVRINENKO 85

Etude sur la biréfringence dans les phénomènes de dégénérescence et régénérescence des nerfs périphériques au cours des lésions expérimentales et de pathologie humaine, par STATE DRAGANESCO et D. CASANGIU 103

Influence de quelques toxines bactériennes sur les tumeurs de Jensen des rats, par V. BARONI 125

Sur les relations entre la lympho-granulomatose maligne et la tuberculose, par E. C. CRACIUN, ION GASPAR et ALEXANDRE URSU. 143

Sur la lyse du pneumocoque par le chloroforme, par S. A. STURDZA . . 171

Septicémie à Bacillus Funduliformis, par COSTIN FULGA 187

Notes sur la rage, par DÉMÈTRE JONNESCO 199

Contribution à l'étude de la distribution des races d'Anopheles Maculipennis en rapport avec les grandes lignes de répartition du paludisme en Roumanie, par G. ZOTTA 209

Revue des travaux sur le lysozyme, par L. MESROBEANU et O. NOEPPEL . 247

Tumeur primitive du thymus et syndrome leucémique (lymphoïde), par A. SLATINEANO, C. BARTH, G. BALMUS et P. BALMUS 273

Etude cytologique de l'exsudat péritonéal produit chez le singe par l'inoculation intrapéritonéale du virus de la lymphogranulomatose inguinale bénigne (maladie de Nicolas-Favre), par ION MESROBEANU 289

Etude sur les lipides biréfringents de l'ovaire et du testicule chez quelques animaux, par STATE DRAGANESCO et D. CASANGIU. 299

Page

Recherches sur les Gastrophiles en Roumanie (étude systématique et biologique), par G. DINULESCO 315
Contribution à l'étude de l'action du dinitrophénol 2—4 sur le sang du lapin, par SILVIA IROFTI 337
The position of human malaria oocysts on the stomach of Anopheles maculipennis, par P. G. SHUTE 351
Contribution à l'étude de l'action préventive de l'atébrine [Infection intentionnellement provoquée au Pl. falciparum (M. T.) R. 78 et au Pl. vivax (B. T.) H.O.H.R.], par M. CIUCA, L. BALLIF, M. CHELARESCO, N. LAVRINENKO, M. HURDUC, M. ISANOS et L. GLASER 355
The longevity of the female adults of three races of Anopheles maculipennis which occur in nature in northern Roumania, par P. G. SHUTE and E. UNGUREANU 403
Etude biochimique et sérologique de 51 souches de streptocoques, par SYLVIA IROFTI 423
Note préliminaire concernant l'emploi de la tuberculine pour le dépistage de l'infection tuberculeuse dans les collectivités, par M. NASTA, V. SEICARU et M. H. DUMITRESCO 431
Présence du bactériophage dans les eaux. Son importance épidémiologique, par ION COCIOBA 437
Wertbemessung der antitoxischen Dysenterie-(Shiga-Kruse) Sera mit Hilfe der Standardmethode am Tiere in ihrer Beziehung zum erstflockenden Gemisch (III. Mitteilung), par GH. ISTRATI 463

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

ATHANASIU . . . . . (Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).
BADENSKI (G.) . . . . . (Voir TUPA, A.).
BAISOIU . . . . . (Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).
BALLIF (L.) . . . . . (Voir CIUCA, M.).
BALMUS (G.) . . . . . (Voir SLATINEANU, A.).
BALMUS (P.) . . . . . (Voir SLATINEANU, A.).
BARONI (V.) . . . . . Influence de quelques toxines bactériennes sur les tumeurs de Jensen des rats 125
BARTH (C.) . . . . . (Voir SLATINEANU, A.).
BLECHMANN . . . . . (Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).
CASANGIU (D.) . . . . . (Voir DRAGANESCO, S.).
CERKEZ . . . . . (Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).
CHELARESCO (M.) . . . . . (Voir CIUCA, M.).
CIUCA (M.), BALLIF (L.), CHELARESCO (M.) et LAVRINENKO (N.) Contribution à l'étude du Pl. Falciparum 85
CIUCA (M.), BALLIF (L.), CHELARESCO (M.), LAVRINENKO (N.), HURDUC (M.), ISANOS (M.) et GLASER (L.) . . . . . Contribution à l'étude de l'action préventive de l'atébrine 355
CIUCA (M.) . . . . . (Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).
CIUCA (M.) . . . . . (Voir TUPA, A.).
COCIOBA (I.) . . . . . Présence du bactériophage dans les eaux. Son importance épidémiologique 437
CRACIUN (E. C.), GASPAR (I.) et URSU (A.) . . . . . Sur les relations entre la lympho-granulomatose maligne et la tuberculose . 143
DINULESCO (G.) . . . . . Recherches sur les gastrophiles en Roumanie 315

Draganesco (S.) et Casangiu (D.)	Etude de la biréfringence dans les phénomènes de dégénérescence et régénérescence des nerfs périphériques au cours des lésions expérimentales et de pathologie humaine	103
Draganesco (S.) et Casangiu (D.)	Etude sur les lipides biréfringents de l'ovaire et du testicule chez quelques animaux	299
Dumitrescu	(Voir Ionescu-Mihaesti, C.).	
Dumitresco (M. H.)	(Voir Nasta, M.).	
Fulga (C.)	Septicémie à Bacillus Funduliformes .	187
Gaspar (I.)	(Voir Craciun, E. C.).	
Glaser (L.)	(Voir Ciuca, M.).	
Hurduc (M.)	(Voir Ciuca, M.).	
Ionescu-Mihaesti (C.), Ciuca (M.) Nasta (M.), Veber (T.), Athanasiu, Baisoiu, Blechmann, Cerchez, Dumitrescu, Papazol, Patroianu, Tunaru, Notaru (M-lle)	La vaccination antituberculeuse par le B.C.G. en Roumanie. Dix années de vaccination à Bucarest	5
Ionescu (P.)	(Voir Tupa, A.).	
Jonnesco (D.)	Notes sur la rage	199
Irofti (S.)	Contribution à l'étude de l'action du dinitrophénol 2—4 sur le sang du lapin	336
Irofti (S.)	Etude biochimique et sérologique de 51 souches de streptocoques	423
Isanos (M.)	(Voir Ciuca, M.).	
Istrati (Gh.)	Wertbemessung der antitoxischen Dysenterie-(Shiga-Kruse) Sera mit Hilfe der Standardmethode am Tiere in ihrer Beziehung zum erstflockenden Gemisch	403
Lavrinenko (N.)	(Voir Ciuca, M.).	
Mesrobeanu (I.)	Etude cytologique de l'exsudat péritonéal produit chez le singe par l'inoculation intrapéritonéale du virus de la lymphogranulomatose inguinale bénigne (maladie de Nicolas-Favre) . .	289
Mesrobeanu (L.) et Noeppel (O.)	Revue des travaux sur le lysozime .	247
Nasta (M.), Seicaru (V.) et Dumitresco (M. H.)	Note préliminaire concernant l'emploi de la tuberculine pour le dépistage de l'infection tuberculeuse dans les collectivités	431

NASTA (M.)	(Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).	
NOEPPEL (O.)	(Voir MESROBEANU, L.).	
NOTARU (M-lle)	(Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).	
PAPAZOL	(Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).	
PATROIANU	(Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).	
SEICARU (V.)	(Voir NASTA, M.).	
SHUTE (P. G.)	The position of human malaria oocysts on the stomach of Anopheles Maculipennis	351
SHUTE (P.G.) and UNGUREANU (E.)	The longevity of the female adults of three races of Anopheles Maculipennis which occur in nature in northern Roumania	403
SLATINEANU (A.), BARTH (C.), BALMUS (G.) et BALMUS (P.)	Tumeur primitive du thymus et syndrome leucémique (lymphoïde)	273
STURDZA (S. A.)	Sur la lyse du pneumocoque par le chloroforme	171
TUNARU	(Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).	
TUPA (A.), CIUCA (M.), BADENSKI (G.) et IONESCU (P.)	Contribution à l'étude des lésions histopathologiques dans l'infection expérimentale du M. Rhesus au Pl. Knowlesi	39
UNGUREANU (E.)	(Voir SHUTE, P. G.).	
URSU (A.)	(Voir CRACIUN, E. C.).	
VEBER (T.)	(Voir IONESCU-MIHAESTI, C.).	
ZOTTA (G.)	Contribution à l'étude de la distribution des races d'Anopheles Maculipennis en rapport avec les grandes lignes de répartition du paludisme en Roumanie	208